

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

RADIO-OPACIFICATION DES CALCULS DES VOIES URINAIRES

par

LYNE PICARD

**Mémoire présenté à la Faculté de
Médecine en vue de l'obtention
du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)**

3 septembre 1991

RESUME

Radio-opacification des calculs des voies urinaires

par Lyne Picard

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine de l'université de Sherbrooke
en vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

La plupart des urologues traitant les lithiases urinaires, peu importe la méthode, (lithotripsie extracorporelle, urétéroscopie) rencontrent des problèmes de faible visualisation des calculs avec la fluoroscopie. La difficulté de localiser les calculs des voies urinaires ou leurs fragments peut résulter en une extraction incomplète des calculs, un temps opératoire prolongé et un risque augmenté de récurrence et de complication post-opératoires.

Nous avons cherché et trouvé un moyen d'augmenter la radio-opacité des calculs des voies urinaires par une technique simple de perfusion de métaux en solution. En premier lieu, la capacité de radio-opacification a été démontrée pour des incubations *in vitro* de fragments de calculs humains avec des solutions aqueuses de césium, barium, strontium, tungstate, des lanthanides et de 2 actinides naturels (uranium, thorium). La plupart des incubations ont considérablement augmenté la radio-opacification des calculs et de significatives incorporations des métaux lourds à ces mêmes calculs ont été notées. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le Cs, Ba et Sr, les lanthanides (Gd, Yb) et les actinides (U, Th).

Nous sommes passés d'un modèle statique à un modèle dynamique de perfusions *in vitro*. Les calculs étaient perfusés avec un mélange d'urine et de solutions aqueuses de métaux lourds. Des radio-opacifications et incorporations significatives furent obtenues avec le Ba, les lanthanides (Gd, Dy, Yb, Lu) et les actinides (U, Th).

Comme le maintien d'un rein isolé dans un état fonctionnel était plutôt difficile à réaliser, des perfusions *in vivo* furent entreprises. Des chiens avec des fragments de calculs humains implantés ont servi de modèles. Les voies urinaires supérieures ont été perfusées de façon rétrograde à l'aide d'un cathéter pyélique avec les solutions de sels de métaux lourds. Des élévations considérables de la radio-opacité en plus d'une incorporation furent observées pour les éléments suivants: Cs, Sr, Ba, les lanthanides (Gd, Yb).

Des perfusions chez le chien chronique ont aussi été faites. Elles diffèrent des précédentes en ce que les fragments de calculs sont implantés et la perfusion n'est effectuée qu'après 2 mois d'attente. Le but était d'obtenir des calculs plus près de l'état endogène et d'observer ce qui se passe au point de vue radio-opacification et incorporation. On obtint une radio-opacification adéquate avec les 2 métaux testés: le Cs et le Gd. L'incorporation fut faible (environ 1 %). Ceci pourrait être associé à un rinçage trop long des voies urinaires suivant la perfusion au métal ou à une récupération incomplète des fragments.

L'évaluation morphologique de l'épithélium urinaire d'animaux traités avec les sels de Cs, d'Yb, n'a démontré aucun effet toxique. Il y eut perte épithéliale superficielle avec le Gd. Toutefois cette altération est considérée comme mineure. Des études d'absorption par l'urothélium lorsque le rein est perfusé par voie rétrograde (via l'uretère) furent faites avec le ^{137}Cs et le ^{153}Gd . Sans obstruction rénale, 0.3 % du ^{137}Cs fut absorbé. Avec obstruction rénale (bloque la sortie d'urine), 7 % du ^{137}Cs a été absorbé. Aucune absorption n'a été observée avec le ^{153}Gd en absence ou en présence d'obstruction rénale.

La scintigraphie réalisée avec le ^{153}Gd a démontré que lorsque cet isotope est injecté par voie intraveineuse, il se localise préférentiellement au foie et aux os. L'élimination du ^{153}Gd de l'organisme se fait lentement.

TABLE DES MATIERES

	<u>page</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
 <u>MATÉRIEL ET MÉTHODES</u>	
 A) Matériel	
- incubations <i>in vitro</i> de calculs rénaux	12
- perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux isolés	13
- perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens	13
- perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens	14
- perfusions <i>in vivo</i> chez le chien chronique	14
- évaluation pathologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux	15
- études d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd	15
- scintigraphie au ^{153}Gd	16
 B) Méthodes	
- incubations <i>in vitro</i> de calculs rénaux	17
- perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux isolés	18
- perfusions extracorporelle de calculs rénaux dans des cavités excrétrices (reins) de chiens	20
- perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens	21
- perfusions <i>in vivo</i> chez le chien chronique	23

	<u>page</u>
- évaluation morphologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux	28
- études d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd	30
- scintigraphie au ^{153}Gd	34

RÉSULTATS ET DISCUSSION:

A) Choix des agents opacifiants des calculs des voies urinaires	35
B) Incubations <i>in vitro</i> de calculs rénaux (sans urine)	37
C) Incubations <i>in vitro</i> de calculs rénaux (avec urine)	47
D) Perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux isolés	49
E) Perfusions extracorporelle de calculs rénaux dans des cavités excrétrices (reins) de chiens	50
F) Perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens	55
G) Perfusions <i>in vivo</i> chez le chien chronique	72
H) Evaluation morphologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux	80
I) Etudes d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd	93
J) Scintigraphie au ^{153}Gd	105

	<u>page</u>
<u>CONCLUSION</u>	117
<u>REMERCIEMENTS</u>	121
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	122

LISTE DES FIGURES

	<u>page</u>
Figure 1. Localisation des calculs urinaires.	8
Figure 2. Montage utilisé lors des perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux isolés.	19
Figure 3. Montage utilisé lors des perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens.	23
Figure 4. Emplacement des calculs urinaires et des éclisses urétérales lors des perfusions <i>in vivo</i> .	24
Figure 5. Montage utilisé lors des perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens.	25
Figure 6. Emplacement d'un tuteur urétéral.	26
Figure 7. Montage utilisé lors des perfusions <i>in vivo</i> avec le ^{137}Cs et le ^{153}Gd avec obstruction rénale.	33
Figures 8a-8e. Incubations <i>in vitro</i> de fragments de struvite.	40-44
Figure 9. Visualisation différentielle d'un fragment de struvite incubé en présence d'uranium.	45
Figure 10. Incubations <i>in vitro</i> de fragments de struvite en présence d'urine.	48
Figure 11. Perfusions <i>in vitro</i> de fragments de struvite.	51
Figure 12. Perfusion <i>in vitro</i> de calculs dans des reins de chiens.	54

	<u>page</u>
Figures 13a-13d. Radiographies abdominales de fragments de calculs implantés.	58-67
Figure 14. Cinétique de la radio-opacification des fragments de calculs avec le césium.	69
Figure 15. Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le césium.	70
Figure 16. Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le césium (chien chronique).	77
Figure 17. Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le gadolinium (chien chronique).	78
Figure 18. Comparaison entre la radiographie et l'échographie pour la détection de petits calculs.	81
Figure 19. Cytologie de l'épithélium urinaire non traité.	82
Figure 20. Altérations mécaniques de l'urothélium.	84
Figure 21. Cytologie de l'épithélium urinaire traité à la Renacidine.	85
Figure 22. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Renografin-76.	86
Figure 23. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Cs.	87
Figure 24. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Gd.	89

	<u>page</u>
Figure 25. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Yb.	90
Figure 26. Courbe standard du ^{137}Cs .	94
Figure 27. Courbe standard du ^{153}Gd .	95
Figure 28. Distribution du ^{137}Cs après perfusion du rein droit, sans obstruction rénale.	96
Figure 29. Distribution du ^{137}Cs après injection dans le rein droit, avec obstruction rénale.	97
Figure 30. Distribution du ^{153}Gd après perfusion du rein droit, sans obstruction rénale.	102
Figure 31. Distribution du ^{153}Gd après injection dans le rein droit, avec obstruction rénale.	103
Figures 32a à 32h. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.	106-114
Figure 33. Biodistribution du ^{153}Gd dans l'organisme	115

LISTE DES TABLEAUX

	<u>page</u>
Tableau 1. Composition et radio-opacité des calculs urinaires.	6
Tableau 2. Incubations <i>in vitro</i> de fragments de struvite.	39
Tableau 3. Perfusions <i>in vitro</i> de fragments de struvite.	52
Tableau 4. Perfusions <i>in vitro</i> de calculs rénaux dans des reins de chiens.	56
Tableau 5. Perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux.	57
Tableau 6. Perfusions <i>in vivo</i> de calculs rénaux chez le chien chronique.	75
Tableau 7. Toxicité aiguë de quelques lanthanides injectés par voie intrapéritonéale ou intraveineuse.	92
Tableau 8. Dissolution des organes au ^{137}Cs .	99
Tableau 9. Dissolution des organes au ^{153}Gd .	104

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

d.o.	densité optique
p/p	poids sur poids (pourcentage)

INTRODUCTION

La lithiase des voies urinaires est un problème fréquent en médecine. Elle afflige l'homme depuis l'Antiquité. La prévalence de la lithiase urinaire est dix fois plus élevée aujourd'hui qu'elle l'était au début du siècle, et l'incidence augmente continuellement. Une étude aux États-unis a démontré qu'une admission sur 1000 était due à une lithiase urinaire et a suggéré que la prévalence de la maladie était 10 fois plus élevée soit environ 1 % (ROUS, 1987; NIH, 1989). Les lithiases récidivent chez 50 % des patients dans les 5 à 10 ans. On estime qu'un Américain mâle, de race blanche, a une chance sur huit de former une lithiase urinaire, avant l'âge de 70 ans.

Pathogénèse de la lithiase urinaire (LAROCHE et coll., 1990)

Les calculs des voies urinaires sont composés de cristaux et d'une matrice protéinique. La théorie sur la pathogénèse, qui suit, explique comment les cristaux se forment et réagissent avec la matrice organique pour générer des calculs. Quatre principaux facteurs sont impliqués dans la formation des calculs. Ce sont la sursaturation, les inhibiteurs de cristallisation, les promoteurs de cristallisation et la rétention de cristaux (ROUS, 1987 ; NIH, 1989).

La sursaturation

Le produit de solubilité (pK) détermine la solubilité d'une substance. On mesure cette valeur en solubilisant les cristaux d'une substance dans de l'eau pure à une température et un pH précis. Puisque l'urine est composée de plusieurs ions, la solubilité d'une substance dans l'urine est différente de sa solubilité dans l'eau. L'urine est une

solution sursaturée: des composés peuvent y être dissous à une plus grande concentration que dans l'eau. Lorsque la concentration d'une substance excède une valeur dite de "concentration de formation", une précipitation instantanée se produit. Pour qu'il y ait formation d'un calcul, l'urine doit être nécessairement sursaturée.

Nous pouvons établir trois zones de saturation de l'urine en fonction de la solubilité (pK) et le produit de formation des cristaux: les zones stable, métastable et instable. Dans la zone stable (sous-saturation), une aggrégation est possible. Cependant il n'y a pas de nucléation ni de croissance des cristaux dans cette zone. Des calculs déjà formés peuvent se dissoudre dans la zone stable. Dans la zone métastable (sursaturation) il peut y avoir croissance des calculs. La dissolution des calculs déjà formés est rare mais leur aggrégation est possible. Dans la zone instable (supersaturation), la nucléation spontanée, la croissance rapide et l'aggrégation des calculs sont possibles.

Notons que la cristallisation d'un calcul peut se diviser en trois étapes. La nucléation est la phase où il y a formation de nouveaux cristaux. On parle aussi de nucléation hétérogène lorsque deux ou plusieurs types de cristaux (ex. oxalate de Ca et urate) croissent l'un sur l'autre via plusieurs zones où leurs surfaces sont mises en commun. La croissance est l'étape où il y a augmentation du volume des calculs. L'aggrégation est le phénomène de regroupement des calculs.

Des facteurs autres que la sursaturation peuvent engendrer la précipitation. Il s'agit des promoteurs de cristallisation, la diminution des inhibiteurs de cristallisation et/ou la combinaison de ces deux facteurs.

Les inhibiteurs de cristallisation

Des gens tout-à-fait normaux peuvent avoir une urine sursaturée mais, par définition, ils ne génèrent pas de calcul. A des concentrations ioniques normales, la formation des calculs peut survenir, si il y a manque d'inhibiteurs de cristallisation. Les inhibiteurs peuvent se diviser en deux groupes distincts par leur mécanisme d'action. Les chélateurs (ex. citrate, Mg^{++} , Zn^{++}) forment des complexes solubles avec le Ca, l'oxalate ou le phosphate. Les inhibiteurs, proprement dits, recouvrent les cristaux empêchant leur croissance et leur aggrégation. Les pyrophosphates, glycosaminoglycans et des fragments de type ARN sont des exemples d'inhibiteurs. Notons qu'un agent peut, suivant sa concentration, agir comme chélateur ou inhibiteur.

Les promoteurs de cristallisation

La matrice organique, retrouvée dans l'urine des patients lithiasiques, est un facteur promouvant la cristallisation. Tous les calculs en comportent une. Cette matrice est composée de leucocytes, d'érythrocytes, de débris d'épithélium et de produits de dégradation des bactéries. Le complexe matrice-cristal se lie fortement à la paroi des tubules rénaux ainsi qu'aux papilles. La matrice organique peut aussi promouvoir la nucléation et faciliter l'aggrégation des cristaux.

La rétention des cristaux

Le passage de particules cristallines dans l'urine (cristallurie) est un phénomène physiologique affectant la majorité des individus. Une mauvaise évacuation de ces particules des voies urinaires entraîne une pathologie calculeuse. Le site d'où origine cette pathologie est la papille rénale. C'est la zone principale de sursaturation, donc de

formation des calculs. Toutefois, si le débit urinaire est normal, les cristaux présents dans les lumières tubulaires n'obstruent pas le tube collecteur et ne forment pas de calcul.

Les principaux facteurs promouvant la rétention des cristaux sont: (a) l'adhésion des cristaux aux cellules tubulaires, (b) la cristallisation dans l'interstitium cellulaire ou dans la cellule et (c) l'immobilisation des cristaux dans des débris cellulaires.

Les calculs des voies urinaires

Il y a quatre principaux types de calculs. Soient les calculs de calcium, les calculs infectieux (magnésium ammonium phosphate), d'acide urique et de cystine (voir tableau 1). En Amérique du Nord la plupart des patients forment des calculs de calcium (75 %) (DAVIDSON, 1985). Leur fréquence ainsi que la complexité de leur pathogenèse et de leur traitement en font de loin un sujet plus important que les autres. La morbidité, le taux de complications et les interventions requises sont élevées en raison de récives multiples. Les calculs infectieux représentent environ 15 % de tous les calculs (DAVIDSON, 1985). Ils sont composés d'un mélange de phosphate, d'ammonium et de magnésium et peuvent être associés à du phosphate de calcium, minéraux qui précipitent tous en milieu alcalin. Ils sont presque toujours secondaires à une infection urinaire. Ils se voient aussi lors de malformations congénitales ou acquises des voies excrétrices, compliquées d'infection. Les calculs d'acide urique comptent pour 7 % des calculs urinaires et peuvent se présenter sous forme pure ou mixte (DAVIDSON, 1985). Leur formation s'explique par plusieurs facteurs favorisants dont les plus importants sont: un pH urinaire qui reste acide de façon persistante et la concentration anormalement élevée de l'acide urique dans les urines comme on le rencontre souvent chez les goutteux, par

exemple. Les calculs de cystine représentent environ 3 % de tous les calculs (DAVIDSON, 1985). L'anomalie est un défaut congénital de réabsorption tubulaire de cet acide aminé. Celui-ci se retrouve alors en concentration élevée dans l'urine et précipite en milieu acide. La radio-opacité des lithiases urinaires (densité notée sur une radiographie) est très variable (voir tableau 1). Il est bien connu que les calculs contenant du calcium, tel l'oxalate de calcium et le phosphate de calcium sont les plus radio-opaques (DAVIDSON, 1985). Les phosphates ammoniaco-magnésiens ne sont pas radio-opaques. Ils deviennent modérément radio-opaques avec l'ajout de phosphate de calcium. Les calculs de cystine sont légèrement radio-opaques tandis que les calculs d'acide urique ne sont pas radio-opaques.

Problématique

Tout traitement chirurgical des calculs des voies urinaires (lithotripsie par ondes de choc extracorporelles, extraction per cutanée, urétéroscopie) dépend d'une visualisation adéquate des calculs. La durée de la chirurgie, la récurrence, la morbidité et le taux de complication dépendent d'une bonne visibilité des calculs par fluoroscopie durant la procédure. Une forte proportion de tous les calculs des voies urinaires ne sont pas assez radio-opaques pour permettre l'extraction directe ou une lithotripsie sous simple contrôle fluoroscopique. Même les calculs les plus radio-opaques (oxalate de calcium, phosphate de calcium) peuvent devenir faiblement visibles une fois qu'ils ont été fragmentés. L'échographie, permet également de localiser les calculs ou leurs fragments mais, elle est toutefois limitée par la grosseur des calculs (limite de détection autour de 4 mm de diamètre) et, dans le cas de calculs ou de fragments multiples par

Tableau 1. Composition et radio-opacité des calculs urinaires (DAVIDSON, 1985).

Types	Fréquence (%)	Radio-opacité
<i>Lithiase calcique</i>		
Oxalate de calcium (OxCa)	35	+++
Phosphate de calcium (PhCa)	5	+++
Mixte (OxCa + PhCa)	35	+++
<i>Lithiase d'infection</i>		
Magnésium ammonium phosphate	1	-
Magnésium ammonium phosphate + Phosphate de calcium	14	++
<i>Acide urique</i>	7	-
<i>Cystine</i>	3	+

Fréquence des lithiases urinaires chez l'homme en Amérique du Nord. La lithiase calcique est la plus fréquente. La radio-opacité est la densité radiologique des calculs. +++ représente une radio-opacité élevée, ++ une radio-opacité modérée, + une radio-opacité légère, - calculs non radio-opaques.

l'hyperéchogénéité (KELLUM et coll., 1987). De plus, la manipulation des calculs est difficile sous contrôle échographique simultané. Après lithotripsie, la plupart des fragments générés (84 %) sont inférieurs à 5 mm de diamètre et, si ils ne sont pas expulsés spontanément, ils sont difficiles à visualiser (MIDDLETON et coll., 1988). Les calculs résiduels après chirurgie sont la cause la plus importante de récurrence (MORRIS et FISHER, 1986) et de complications. Un perfectionnement des méthodes radiologiques de localisation et de manipulation des calculs pourrait améliorer les résultats des traitements des calculs. Un exemple est montré à la figure 1 (CORCOS, communication personnelle). Un calcul coralliforme était présent chez ce patient (figure 1a). Après une chirurgie per cutanée, on nota 3 fragments résiduels (figure 1b). Une lithotripsie fut alors tentée, mais 2 fragments étaient toujours présents (figure 1c). Une seconde chirurgie per cutanée fut effectuée sans plus de succès (figure 1d). Une visualisation adéquate des calculs aurait réduit le nombre d'interventions chirurgicales et l'extraction aurait été plus complète. Plusieurs situations cliniques pourraient bénéficier de cette procédure de rehaussement de la radio-opacité des calculs. La radio-opacification pourrait être faite avant la chirurgie si les calculs sont peu visibles sous fluoroscopie. Ceci faciliterait toute chirurgie per cutanée ou urétéroscopie et permettrait une meilleure localisation pour la lithotripsie. D'un autre côté, la radio-opacification pourrait être utile après une désintégration initiale des calculs. Ceci simplifierait et accélérerait la détection de fragments résiduels possiblement pathogènes. De plus, on pourrait évaluer l'utilité et le type de toute intervention additionnelle (seconde chirurgie, lithotripsie, dissolution des calculs). A notre connaissance, il n'y a aucune technique qui augmente la radio-opacité des calculs des voies urinaires. Généralement, les milieux de contraste radiologique sont des sels de métaux lourds hautement insolubles (ex.: BaSO_4) ou des molécules

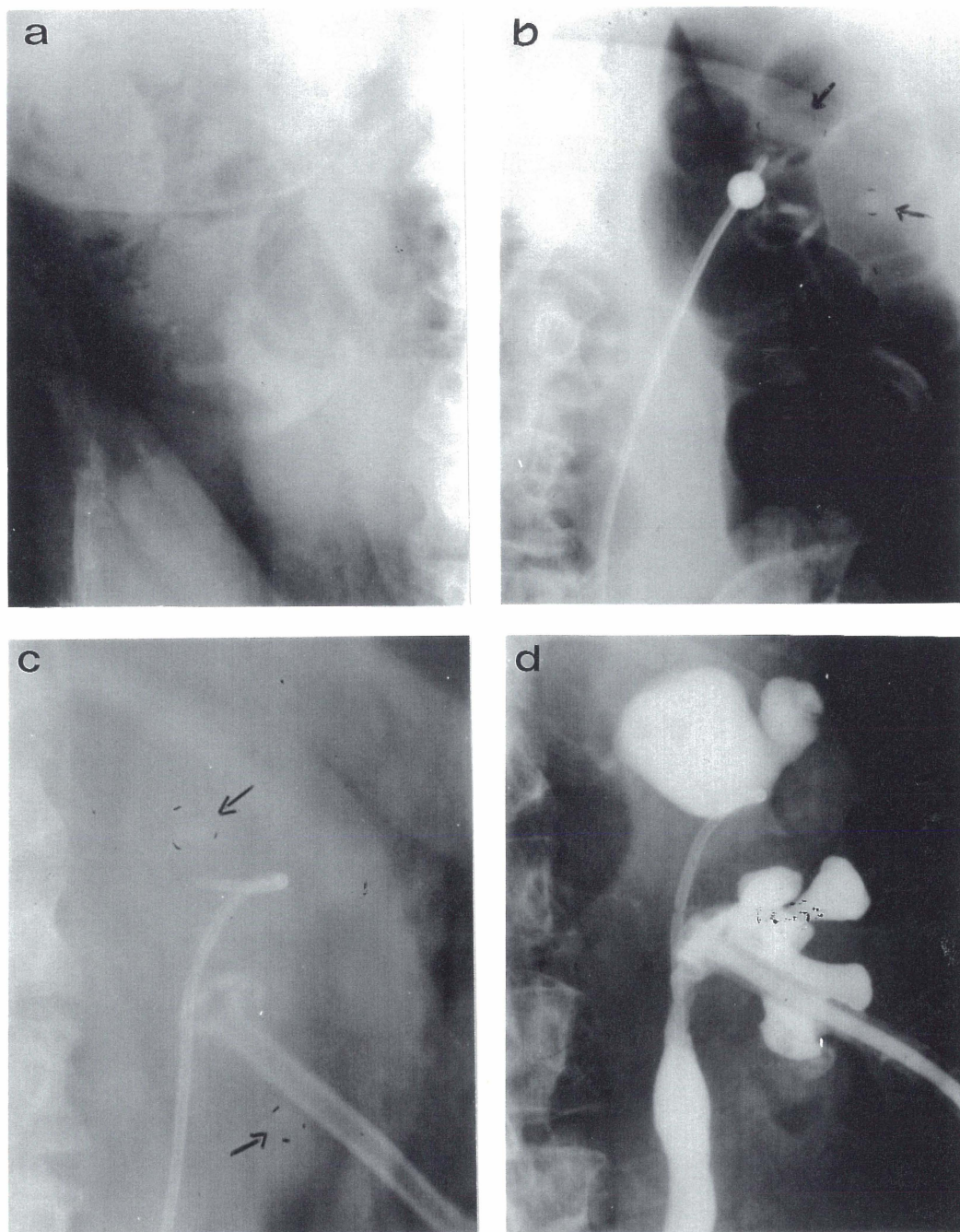


Figure 1. Localisation des calculs urinaires.

Radiographies d'un patient démontrant qu'une localisation non adéquate des calculs ne permet pas l'extraction complète. En *a* radiographie d'un patient présentant un calcul coralliforme, *b* 3 fragments résiduels après une 1^{ère} chirurgie per cutanée, *c* 2 fragments résiduels après une lithotripsie extracorporelle à ondes de choc, *d* 2 fragments encore en place après une 2^e chirurgie per cutanée.

organiques iodées avec le comportement pharmacodynamique approprié comme le méglumine diatrizoate (Renografin-76) (MILLER et coll., 1983). Aucun de ces composés n'est spécifiquement incorporé dans la matrice inorganique des calculs des voies urinaires. Au contraire, les calculs sont fréquemment visualisés par exclusion du milieu de contraste (negative imaging). Un agent pour la visualisation positive des calculs doit interagir avec la matrice du calcul et en s'y incorporant augmenter sa radio-opacité. Dans notre recherche de composés possédant ces propriétés, nous avons regardé les métaux lourds qui a) forment des oxalates et phosphates insolubles, b) sont faiblement ou pas toxiques à l'épithélium urinaire et c) forment des sels solubles dans l'eau.

Approche expérimentale

Nous avons évalué la capacité de radio-opacification et d'incorporation de certains métaux lourds aux calculs des voies urinaires dans plusieurs essais. En premier lieu, nous avons incubé des calculs rénaux humains dans des solutions aqueuses de métaux lourds. Les éléments lourds de la classe 2 du tableau périodique (Sr et Ba), classe 3 (Y, La et les lanthanides) et les actinides naturels U et Th furent évalués et comparés à des solutions de référence. Deux autres éléments furent également étudiés, soient le Cs et tungstate (WO_4^{2-}). L'efficacité du procédé fut évaluée en mesurant le rehaussement de la radio-opacité et l'incorporation du métal lourd au calculs. D'un milieu statique, nous avons passé à un milieu dynamique, soit les perfusions *in vitro*. Dans ce modèle, les calculs furent perfusés avec un mélange d'urine et de solution de métal lourd à un débit constant. Tout ceci se fit en vue de se rapprocher du modèle rénal. Avec l'obtention de

résultats positifs, nous avons passé à un modèle plus complexe, soit la perfusion des calculs dans le rein de chien isolé. Des reins de chiens furent prélevés puis on y introduit des fragments de calculs dans le bassinet rénal. Nous avons fait la perfusion avec quelques métaux lourds. Maintenir un rein isolé dans un état fonctionnel et ce pendant une période relativement longue fut plutôt difficile à réaliser. Nous entreprîmes ainsi des perfusions *in vivo* chez le chien. Des fragments de calculs furent introduits de façon rétrograde dans le bassinet rénal de chiens anesthésiés. Les reins furent directement perfusés avec des solutions de métaux lourds (c'est-à-dire que la perfusion est faite via l'uretère). La réussite de la perfusion étant toujours estimée par le rehaussement de la radio-opacité des calculs et de l'incorporation du métal à ces mêmes calculs. Dans cette partie, la perfusion était immédiatement réalisée suite à l'implantation des calculs, . Mais que se passe-t-il au point de vue radio-opacification et incorporation lorsque les calculs sont endogènes? Y a-t-il élévation plus marquée de la radio-opacité des fragments de calculs, l'incorporation du métal au calcul est-elle supérieure? Nous avons donc introduit des fragments de calculs humains dans le rein de chien. Suite à la chirurgie, l'animal fut simplement mis sous observation pendant 2 mois. Le but de ceci était de rendre les calculs plus endogènes. Après 2 mois d'attente, la perfusion était effectuée et nous pouvions mesurer la radio-opacification et l'incorporation des métaux lourds comme pour les premières perfusions *in vivo*.

Pour vérifier la toxicité des métaux utilisés lors des radio-opacifications, nous avons fait l'évaluation morphologique de l'épithélium traité. Immédiatement après la perfusion, des sections d'uretère, de bassinet et de calices étaient prélevées et analysées. Divers standards (agents de contraste) couramment utilisés en clinique furent employés

pour fins de comparaison (ex. Renografin-76, Renacidine 10%).

Comme les perfusions se font via l'uretère, nous avons voulu voir si certains des métaux utilisés étaient réabsorbés au niveau du rein puis entraînés dans la circulation sanguine. Des radio-isotopes des métaux furent employés pour déterminer la réabsorption: soient le ^{137}Cs et le ^{153}Gd . Des perfusions *in vivo* chez le chien furent faites sans obstruction rénale et avec obstruction rénale. L'obstruction rénale implique que l'urine ne peut plus s'écouler librement du rein, elle s'accumule ce qui a pour effet d'élever la pression à l'intérieur du rein. En effet, les patients présentant des lithiases ont souvent un certain degré d'obstruction rénale. Nous voulions déterminer si il y avait réabsorption du métal perfusé dans une telle situation clinique. Nous avons ainsi mesuré la réabsorption à l'aide d'aliqots sanguins prélevés à plusieurs temps ainsi que l'élimination de l'isotope par le rein par des aliqots d'urine.

Complémentaire aux études de réabsorption, une scintigraphie au ^{153}Gd fut réalisée. On voulait étudier la biodistribution du ^{153}Gd dans l'organisme. Le gadolinium fait partie de la famille des lanthanides et a été utilisé dans les perfusions *in vivo*. Nous avons choisi le ^{153}Gd préférentiellement au ^{137}Cs pour une raison: le ^{137}Cs est beaucoup trop énergétique. Son emploi comme traceur ne permettrait pas un enregistrement de résolution adéquate avec la scinti-caméra utilisée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Tous les calculs ont été stérilisés aux rayons gamma (Gamma Cell 220, 38-79 rad/sec).

A) Incubations *in vitro* de calculs rénaux

Incubateur PRECISION SCIENTIFIC CO. 11-W-7, plats de pétris 35x10 mm (FALCON, #3001). Les fragments de calculs utilisés provenaient d'un calcul géant de type struvite (8.1 cm de diamètre, 162 g de poids sec) qui a été fourni par le SHERBROOKE HOSPITAL (Sherbrooke, Qué.). Césium (CsCl , SIGMA, C-3011), Strontium ($\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, FISHER, S-549), Yttrium ($\text{Y}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #83103), Barium ($\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, J.T. BAKER CHEMICAL CO., #0942), Lanthanum ($\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #43105), Cérium ($\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #89302), Praséodymium ($\text{Pr}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #59103), Néodymium ($\text{Nd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #52103), Samarium ($\text{Sm}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #70103), Europium ($\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #15290), Gadolinium ($\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #33103), Terbium ($\text{Tb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #74103), Dysprosium ($\text{Dy}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #27103), Holmium ($\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #38103), Erbium ($\text{Er}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #28103), Thulium ($\text{Tm}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #79102), Ytterbium ($\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #84102), Lutetium ($\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #15276), Tungstate ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ALFA, #87891), Thorium ($\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, FISHER, #T112-100), Uranium ($\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, FISHER, #U4-25), KNO_3 (J.T. BAKER CHEMICAL CO., #3190), KI (FISHER, #P410-100),

Renografin-76 (diatrizoate méglumine 66 % plus diatrizoate sodium 10 %, 37 % iode lié, SQIBB, #82137). Radiographies: appareil PICKER PX 1500, films KODAK MIN-R. Spectrométrie de fluorescence à rayons X: Kevex 700 couplé à un ordinateur 8000, avec tube de rhodium. Balance METTLER H18.

B) **Perfusions *in vitro* de calculs rénaux isolés**

Radiographies: appareil PICKER PX 1500, films KODAK MIN-R. Spectrométrie de fluorescence à rayons X: KEVEX 700. Balance METTLER H18, pompe à infusion/retrait HARVARD APPARATUS 940, $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (J.T. BAKER CHEMICAL CO., #0942), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #84102), $\text{Dy}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #27103), $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #84102), $\text{Lu}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #15276), $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (FISHER, #T112-100), $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (FISHER, #U4-25), KNO_3 (J.T. BAKER CHEMICAL CO., #3190), KI (FISHER, #P410-100), Renografin-76 (SQIBB, #82137). Les calculs utilisés sont les mêmes qu'en A).

C) **Perfusions *in vitro* de calculs rénaux dans des reins de chiens**

Les chiens ont été fournis par le Chenil St-Louis (St-Louis de Blanford, Qué.). Xylazine (CHUS, Sherbrooke, Qué.), atropine (ABBOTT LABORATORIES, #0505), pentobarbital (BDH, #K91984), héparine sodique (A&H). Le Krebs-Ringer employé est composé de: H_2O , α -D glucose (40 g/l, ALDRICH, #15, 896-8), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (11,6 g/l, SIGMA, M-9397), NaCl (276 g/l, ALDRICH, #22, 351-4), KH_2PO_4 (6.4 g/l, pH 7.4, SIGMA, P-3911), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (8.03 g/l, SIGMA, C-4901), KCl (7 g/l, SIGMA, P-3911), NaHCO_3 (40 g/l, pH 7.4, SIGMA, S-6014). Tubes de polyéthylène PE-90 INTRAMEDIC #7421, pompe à infusion/retrait HARVARD APPARATUS 940, $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (J.T. BAKER

CHEMICAL CO., #0942), $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, (FISHER, #T112-100), $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (FISHER, #U4-25). Radiographies: appareil PICKER PX 1500, films KODAK MIN-R. Spectrométrie de fluorescence à rayons X: KEVEX 700. Les calculs utilisés ont été fournis par le CHUS (Sherbrooke, Qué.).

D) **Perfusions *in vivo* de calculs rénaux dans des reins de chiens**

Tube endotrachéal 9.0 mm (MALLINCKRODT, #86448), saline 0.9 % stérile (BAXTER, JB1323), dispositif de base pour solutés, 2 sites d'injection (BAXTER, JC5425), respirateur HARVARD APPARATUS CO. 607A, éclisses urétérales radio-opaques de grosseur 3 et 5 (RÜSCH). Radiographies: appareil PICKER PX 1500, films CURIX RP1-L. Spectrométrie: Kevex 700, pompe à infusion/retrait HARVARD APPARATUS 940, densitomètre X-RITE COMPANY modèle 301, CsCl (SIGMA, C-3011), $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (FISHER, S-549), $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (J.T. BAKER CHEMICAL CO., #0942), $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #15290), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #33103), $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #74103), $\text{Dy}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #27103), $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #84102), $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (FISCHER, #T112-100), $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (FISHER, #U4-25). Calculs rénaux fournis par le CHUS (Sherbrooke, Qué.).

E) **Perfusions *in vivo* chez le chien chronique**

La stérilisation des instruments a été effectuée au bloc opératoire du CHUS (Sherbrooke, Qué.). Provioline (ROUGIER), tuteurs urétéraux en silicone (SURGITEX, #5396240). Radiographies: appareil PICKER PX 1500, films CURIX RP1-L. Spectrométrie de fluorescence à rayons X: Kevex 700. Densitomètre X-RITE COMPANY, modèle 301, médicament topique antibactérien Topazone (AUSTIN), Pen-Di-Strep

(pénicilline G procainique, ROGAR/STB INC.), Dérapène-C, (benzathine-pénicilline G, AYERST), échographie, éclisses urétérales radio-opaques 3 et 5 (RÜSCH), CsCl (SIGMA, C-3011), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #33103), calculs fournis par le CHUS (Sherbrooke, Qué.).

F) Évaluation pathologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux

Éclisses urétérales radio-opaques 3 et 5 (RÜSCH), CsCl (SIGMA, C-3011), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #33103), $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #84102), Renografin-76 (SQUIBB, #82137), Renacidine 10 % (TRAVERNOL), pompe à infusion/retrait HARVARD APPARATUS 940, microscope optique (CARL ZEISS, #4708685).

G) Etudes d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd

i) à iii) ^{137}Cs : CsCl dans 0.1 M de HCl (AMERSHAM, CD52), ^{153}Gd : GdCl_3 dans 0.062 M de HCl (AMERSHAM, GDS1), compteur gamma LKB WALLAC 1271 RIA GAMMA.

ii) Tubes en polyéthylène PE-90 (INTRAMEDIC, #7421), tubes en polyéthylène PE-160 (INTRAMEDIC, #7431), CsCl (SIGMA, C-3011), $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ALFA, #33103), pompe à infusion/retrait HARVARD APPARATUS 940, saline 0.9 % stérile (BAXTER JB123), cathéter intraveineux stérile 20G X 2" (SURFLO), adaptateur (VACUTAINER, #7290), baril (VACUTAINER), tube collecteur de 3 ml héparinisé (VACUTAINER, #6387), tube collecteur d'urine 17 x 100 mm (FALCON, #2059), détecteur Geiger VICTOREEN #496, KOH (FISHER, P250-3).

iii) En plus du matériel compris en iii) on a: bleu de méthylène (FISHER, M-291).

H) Scintigraphie au ^{153}Gd

^{153}Gd : GdCl dans 0.062M de HCl (AMERSHAM, GDS1), Scinticamera PICKER DYNA 4 couplée à un système informatisé de traitement de données, QUACI films, QUAS digitalisé, détecteur Geiger VICTOREEN #496, tubes collecteurs 17 x 100 mm (FALCON, #2059), compteur gamma LKB WALLAC 1271 RIA GAMMA.

MÉTHODES

Des calculs frais des voies urinaires de compositions minérales variées ont été obtenus après chirurgie ouverte ou extraction endoscopique. Ils furent conservés à 4°C dans l'urine humaine, le tout étant stérilisé aux rayons gamma. Certains calculs obtenus étaient par contre déshydratés. Pour ces calculs, une réhydratation dans l'urine humaine stérile était effectuée avant toutes les tentatives de radio-opacification.

A) Incubations *in vitro* de calculs rénaux

Les incubations furent effectuées sans agitation dans des plats de pétris à 37°C pendant 40 heures avec des petits fragments de calculs de type struvite (3-5 mm de diamètre) et 4.0 ml d'une solution de 2.5% du nitrate hydraté de chacun des métaux lourds étudiés.

L'incubation terminée, le surnageant fut éliminé, le calcul fut rincé délicatement 3 à 4 fois avec de l'eau distillée et asséché dans un dessiccateur. Les fragments de calculs ont été radiographiés avant et après incubation sous les mêmes conditions (42 kV, 20 mAs, 81 cm de distance). L'incorporation des métaux lourds aux calculs fut déterminée par la spectrométrie de fluorescence à rayons X sur des fragments de calculs intacts ou encore sur des calculs réduits en poudre (pastille homogène). Le principe de la spectrométrie de fluorescence à rayons X est le suivant: le métal absorbant les radiations incidentes qui lui sont envoyées émet un rayonnement spécifique et proportionnel à sa concentration. Les résultats de cette analyse ont été exprimés en pourcentage de poids

de l'échantillon. Comme témoins, des incubations avec du nitrate de potassium, de l'iodure de potassium et de l'agent de contraste conventionnel (Renografin-76) ont été effectuées.

Il est à noter que deux types d'incubation furent réalisées, une avec les métaux en solution aqueuse seulement, l'autre avec addition d'urine. L'incubation en solution aqueuse nous permis de tester le pouvoir opacifiant du métal sur les calculs et l'incubation en présence d'urine nous rapprocha davantage du milieu endogène du calcul. Dans ce dernier cas, le calcul baignait dans 2.5 ml d'urine et 1.5 ml de solution métallique 2.5 %, le tout étant stérilisé aux rayons γ . Le reste du processus demeurerait identique. Un dernier point à souligner est la pesée des fragments de calculs avant et après incubation. On pu ainsi voir si la radio-opacification des calculs se faisait par adsorption du métal sur le fragment ou par échange du métal avec d'autres ions du fragment de calcul.

B) Perfusions *in vitro* de calculs rénaux isolés

Des radiographies étaient toujours de mise afin de déterminer la radio-opacification. La perfusion a été réalisée à l'aide d'une pompe à infusion/retrait dans un bain thermostaté à 37°C. 50 ml d'urine diluée et 20 ml d'une solution 2.5% du nitrate de métal lourd hydraté furent placées respectivement dans des seringues et montées sur la pompe (voir figure 2). Le débit d'infusion était réglé par la pompe à 0.191 ml/min. Une fois la perfusion terminée, les calculs ont été lavés et asséchés et nous avons procédé à l'analyse des calculs telle que décrite précédemment. Les calculs utilisés étaient les mêmes que pour les incubations.

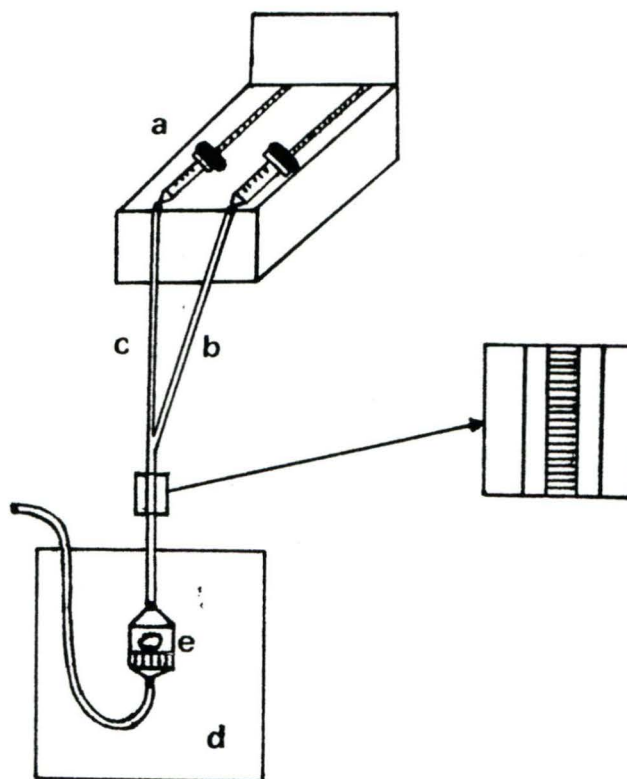


Figure 2. Montage utilisé lors des perfusions *in vitro* de calculs rénaux isolés.

La perfusion était réalisée à l'aide d'une pompe à infusion/retrait (a). 50 ml d'urine diluée (b) et 20 ml d'une solution 2.5 % du métal lourd (c) étaient placées dans des seringues et montées sur la pompe. La perfusion fut réalisée dans un bain thermostaté à 37°C (d). Le fragment de calcul est indiqué en (e). A noter que le métal a été isolé de l'urine en le plaçant dans un tube de calibre inférieur à celui où l'urine circulait. Cette séparation évitait la précipitation du métal avec l'urine.

C) Perfusion extracorporelle de calculs rénaux dans des cavités excrétrices (reins) de chiens.

Les animaux utilisés étaient des chiens bâtards de sexe femelle, non gestants, pesant de 23 à 35 kg. Les chiens furent mis à jeûn pour une période de 24 heures avant le début de l'expérimentation. Il y eut pré-anesthésie de l'animal par injection intramusculaire de xylazine (1.1 mg/kg) et d'atropine (0.05 mg/kg). L'anesthésie s'effectua par injection de pentobarbital (30 mg/kg) via la veine céphalique ou la veine saphène. 1 ml d'héparine (1000 UI/ml) fut également ajoutée comme agent anticoagulant pour empêcher entre autres la formation de caillots au niveau des reins (RENCK, 1988).

On procéda ensuite à la laparotomie. Le prélèvement des reins se fit de façon à conserver à l'artère, la veine et l'uretère des longueurs suffisantes pour être canulées. Les reins furent immergés et remplis d'une solution Krebs-Ringer maintenue à 4°C. L'animal fut sacrifié par surdose de pentobarbital. Nous avons introduit un cathéter (PE90) dans l'artère rénale et le rein a été immédiatement perfusé avec une solution Krebs-Ringer thermostatée à 37°C. Après avoir canulé la veine, nous avons vérifié la perfusion du rein par la solution Krebs-Ringer. A l'obtention d'un débit veineux satisfaisant, nous avons procédé à l'introduction de 3 à 5 petits fragments de calculs rénaux (1.5 à 3.0 mm de diamètre) jusqu'au bassinnet via l'uretère. 2 cathéters ont été insérés dans l'uretère: l'un servant à la sortie d'urine et l'autre à l'entrée de la solution métallique. 50 ml de la solution (2.5%) fut perfusée à l'aide d'une pompe à infusion/retrait à un rythme de 0.4 ml/min (voir figure 3). Suivant la perfusion, les calculs furent extraits des reins, lavés, asséchés puis radiographiés. Pour évaluer plus précisément l'incorporation du métal, on fit appel à la spectrométrie de fluorescence à rayons X.

Notons que pour ce type d'expérience, des calculs rénaux plus durs (composés d'oxalate de calcium 92 % et de phosphate de calcium 5 %) ont été employés afin d'éviter leur désagrégation (fluide circulant, etc.).

D) Perfusiones *in vivo* de calculs rénaux dans des reins de chiens

La pré-anesthésie et l'anesthésie ont été pratiquées selon les procédures établies. Après intubation, l'animal fut ventilé mécaniquement, gardé normovolémique par administration intraveineuse de NaCl 0.9% et une laparotomie (du sternum au pubis) fut exercée. Les uretères ont été mobilisés et sectionnés approximativement à 10 cm des reins. 3 à 5 petits fragments (1.5 à 3.0 mm de diamètre) de calculs des voies urinaires furent placés par insertion rétrograde dans le bassinet rénal. 2 éclisses urétérales radio-opaques: une affectée à la sortie de l'urine (grosueur 3) et l'autre à l'entrée de la solution métallique (grosueur 5) ont ensuite été insérées à titre de cathéters. Le cathéter d'infusion était introduit jusqu'au bassinet contrairement au cathéter de sortie qui ne s'y rendait pas (voir figure 4). La plaie abdominale fut suturée, et une première radiographie fut effectuée (54-56 kv, 40 mAs, 102 cm de distance) afin de vérifier l'emplacement des cathéters et calculs et la radio-opacification des calculs. Nous avons infusé la solution métallique (2.5% ou 5%) à l'aide d'une pompe à infusion-retrait à un rythme de 0.94 ml/min. Le débit urinaire était évalué continuellement. L'expérience se terminait si le débit urinaire était égal ou inférieur au volume d'infusion (voir figure 5). Un débit urinaire inférieur au volume d'infusion indique une perte de fonctionnalité des reins. Les pH et les osmolarités urinaires furent également notés. Suivant 1 à 2 heures de perfusion, les cathéters et le bassinet étaient rincés avec du NaCl 0.9% pendant 10 à 30 min pour éliminer les sels non

adsorbés aux calculs. Une seconde radiographie (conditions identiques) de la région abdominale était ensuite faite. En comparant cette radiographie à la première, nous pouvions évaluer *de visu* la radio-opacification des calculs. Des lectures de densité optique furent aussi faites à partir des radiographies pour numériser la radio-opacification. Finalement, l'animal fut sacrifié par une surdose de pentobarbital, les reins furent prélevés, le bassinet ouvert et les calculs rénaux extraits et analysés par spectrométrie de fluorescence à rayons X.

Les calculs rénaux utilisés variaient en composition: mélange d'oxalate de calcium, phosphate de calcium et struvite.

E) Perfusiones *in vivo* chez le chien chronique

La préparation de l'animal à la chirurgie demeura la même. La chirurgie fut pratiquée en conditions stériles afin d'éviter tout risque d'infection. Pour ce, des champs stériles et instruments stériles s'avérèrent nécessaires. De plus, l'abdomen de l'animal fut désinfecté à l'aide de proviodine. On procéda à la laparotomie. Après avoir localisé l'uretère, on y pratique une incision longitudinale de 1 cm, à 3 ou 4 cm de distance du rein. L'ouverture de l'uretère fut maintenue par tractions légères (tissu fragile) avec des fils chirurgicaux aux 4 points cardinaux. Ces étapes nous permettant d'introduire 4 à 6 fragments de calculs des voies urinaires (2 à 4 mm de diamètre) de façon rétrograde jusqu'au bassinet rénal. Des tuteurs urétéraux (cathéters) ont par la suite été mis en place (voir figure 6). Habituellement, les tuteurs urétéraux vont du rein à la vessie mais chez le chien la distance du rein à la vessie est trop courte et le tuteur s'enroule dans la

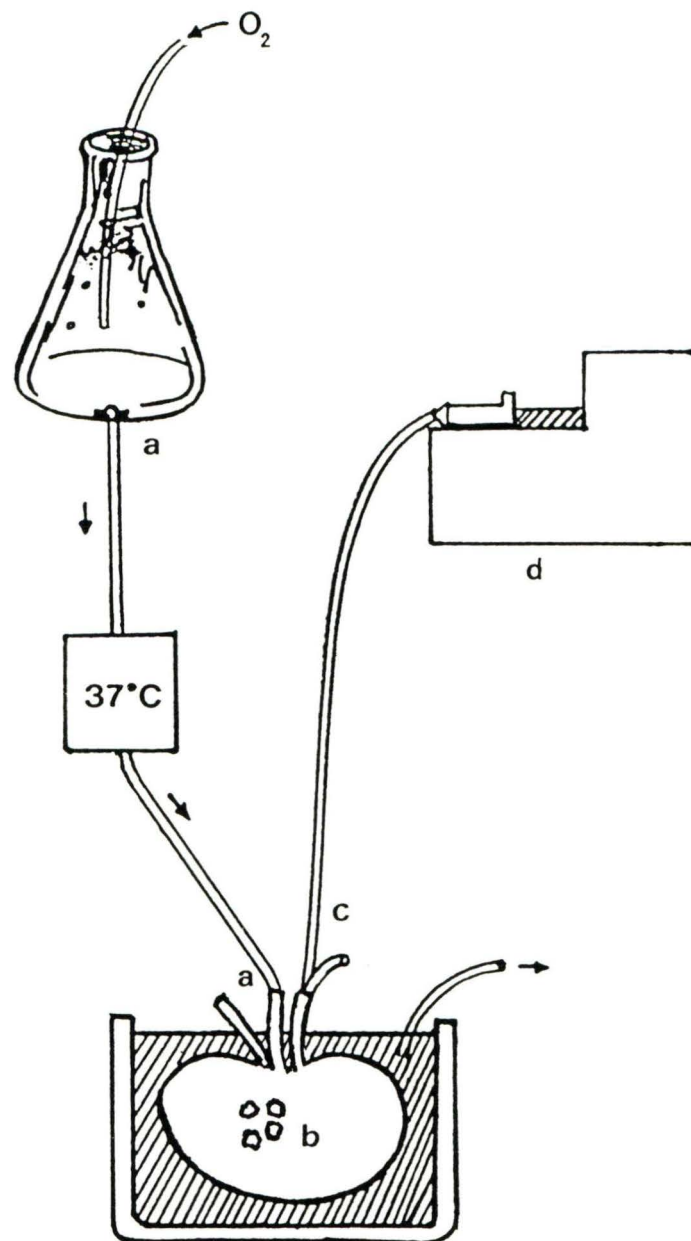


Figure 3. Montage utilisé lors des perfusions *in vitro* de calculs rénaux dans des reins de chiens.

Le rein, maintenu à 37°C, fut perfusé avec une solution de Krebs-Ringer thermostatée aussi à 37°C via l'artère rénale (a). A l'obtention d'un débit veineux satisfaisant, 3 à 5 petits fragments de calculs étaient introduits au bassin (b). 2 cathéters ont été insérés dans l'uretère: l'un servant à la sortie de l'urine et l'autre à l'entrée du métal lourd (c). 50 ml de la solution 2.5 % du métal lourd fut perfusée à l'aide d'une pompe à infusion/retrait (d).

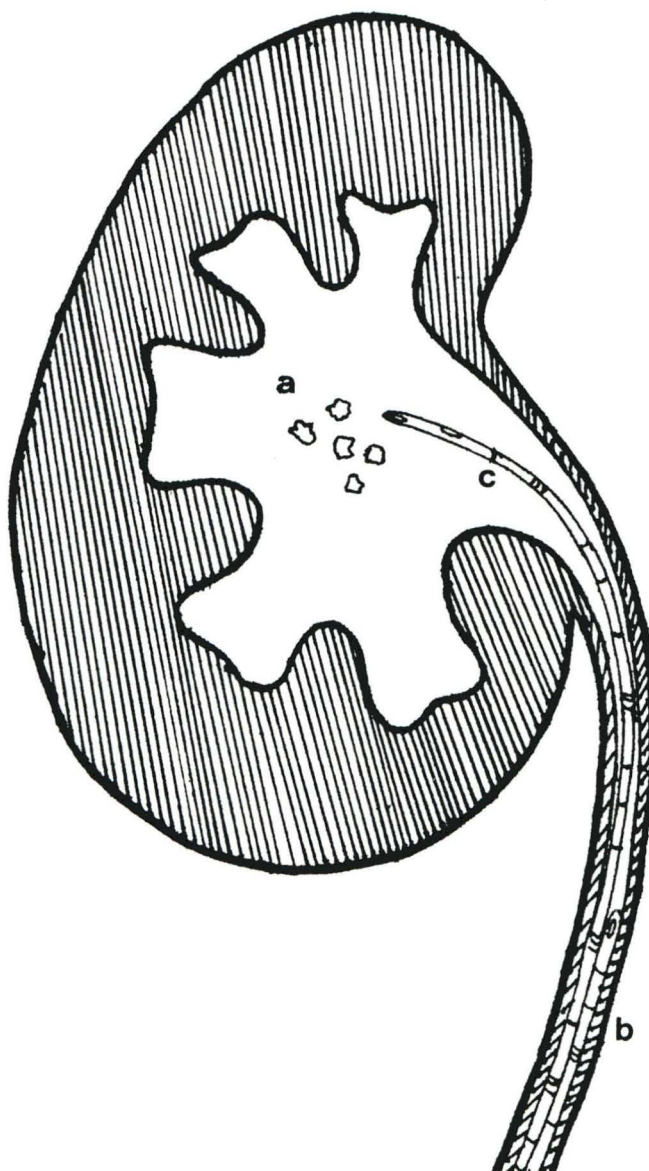


Figure 4. Emplacement des calculs urinaires et des éclisses urétérales lors des perfusions *in vivo*.

3 à 5 petits fragments de calculs des voies urinaires étaient placés par insertion via l'uretère dans le bassinet rénal (a). 2 éclisses urétérales radio-opaques: une affectée à la sortie de l'urine (b) et l'autre à l'entrée de la solution métallique (c) ont ensuite été insérées. Le cathéter servant à la perfusion était introduit jusqu'au bassinet contrairement au cathéter de sortie de l'urine qui ne s'y rendait pas.

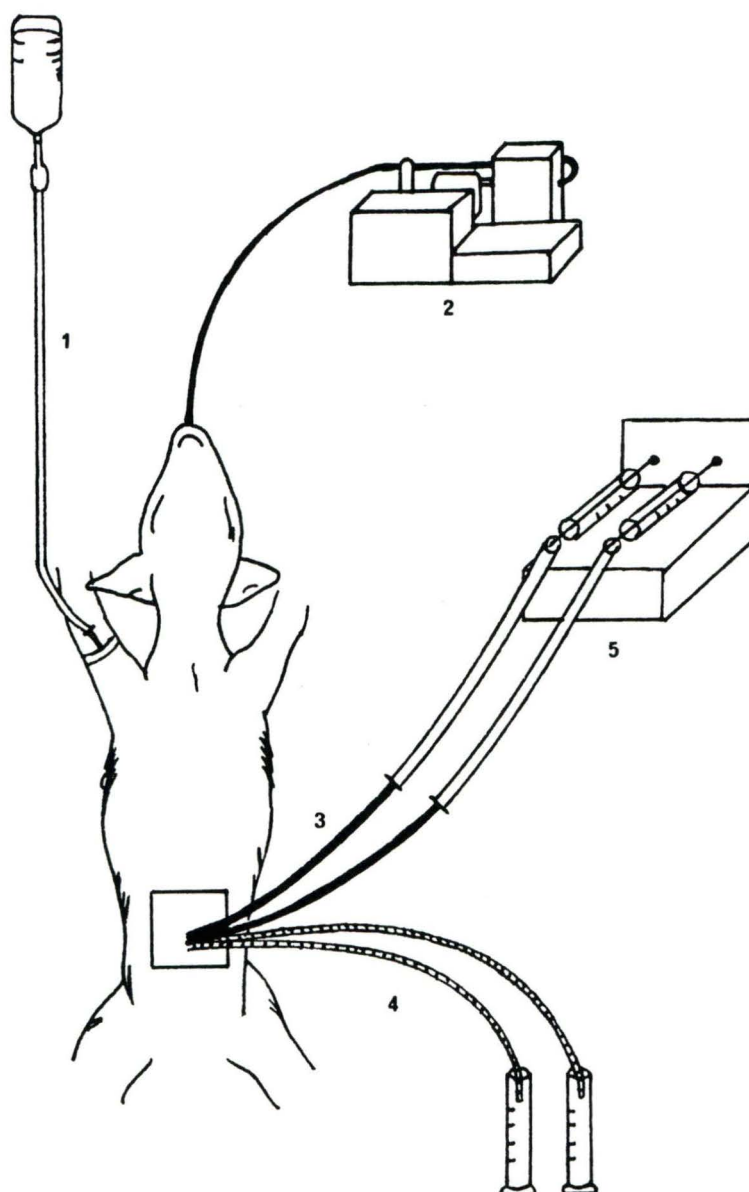


Figure 5. Montage utilisé lors des perfusions *in vivo* de calculs rénaux dans des reins de chiens.

De la saline physiologique a été infusée via la veine céphalique (1). La ventilation de l'animal fut assurée à l'aide d'un respirateur (2). Les éclisses urétrales servant à l'entrée de la solution métallique (3) et à la sortie de l'urine (4). Une pompe à infusion/retrait a été utilisée pour administrer les solutions de métaux lourds (5).

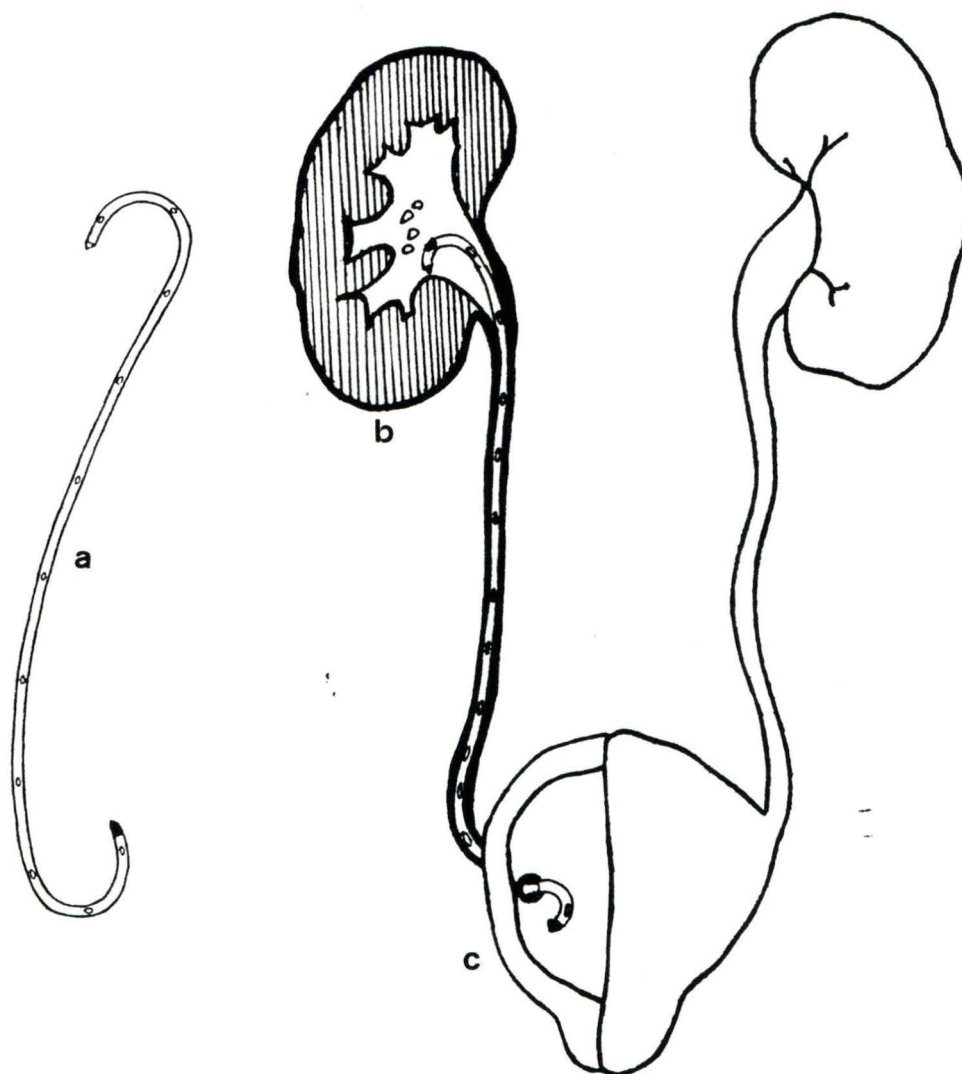


Figure 6. Emplacement d'un tuteur urétéral.

Habituellement, le tuteur urétéral (a) va du rein (b) à la vessie (c). Chez le chien, la distance du rein à la vessie est trop courte et le tuteur s'enroule dans la vessie. Pour remédier à ce problème, le tuteur urétéral a été sectionné en deux laissant l'extrémité en J dans le rein et la partie coupée dans l'uretère abdominal.

vessie. Pour éviter cela, le tuteur urétéral a été sectionné en deux laissant l'extrémité en J dans le rein et la partie coupée dans l'uretère abdominal (soit à environ 10 cm du rein). La fonction du tuteur urétéral introduit était de prévenir la descente des calculs dans l'uretère et d'assurer un drainage adéquat de l'urine. Les deux reins de l'animal furent opérés. On sutura le muscle abdominal puis la peau. Une radiographie fut prise immédiatement après l'intervention chirurgicale pour vérifier l'emplacement des tuteurs urétéraux et calculs des voies urinaires. Les soins post-opératoires furent l'application de topazone (médicament topique antibactérien) servant à prévenir l'infection de la plaie, des injections intramusculaires de pénicilline à effet immédiat pour la première journée (PendiStrep, 2.33ml/kg) et de pénicilline à longue durée d'action (Dérapène C, 0.22 ml/kg pour la deuxième journée puis 0.22 ml/kg aux deux jours pendant une semaine).

Les chiens ont été gardés pour une période de 60 jours. Un suivi radiologique fut établi à 30 jours afin de vérifier l'emplacement des calculs et tout changement morphologique de ces derniers. A 60 jours, on radiographia encore une fois la région abdominale et on effectua une échographie de chaque rein. L'échographie représente un moyen de détection supplémentaire des calculs rénaux en plus de la simple radiographie abdominale. Suite à cela, on put procéder à la perfusion. Puisque l'animal ne comportait pas les cathéters de perfusion, nous avons pratiqué une seconde laparotomie pour enlever les tuteurs urétéraux (sans enlever les calculs) et les remplacer par les éclisses urétérales habituelles. On procéda en général comme pour les perfusions *in vivo* (voir D, p.12). Les seules modifications furent l'emploi de solutions métalliques aqueuses de 5 % et la prise de radiographies à intervalles de 15 min au lieu d'une seule radiographie après 1 ou 2 heures de perfusion et 10 à 30 min de rinçage. Notons que lors du rinçage,

les radiographies étaient prises à 10 min. d'intervalle. Ceci nous a permis de suivre l'évolution de la radio-opacification. Des lectures de densité optique sur les radiographies furent prises pour évaluer quantitativement la radio-opacification. Une échographie après la perfusion fut prise. Par la suite, l'animal fut sacrifié, les reins prélevés et les calculs soumis à la spectrométrie de fluorescence à rayons X. Les calculs utilisés étaient composés d'un mélange d'oxalate de calcium, phosphate de calcium et de struvite.

F) Évaluation morphologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux

L'évaluation des dommages post-opératoires de l'urothélium fut envisagé suivant deux éventualités, soient: une altération chimique (inflammation) par le métal lui-même et/ou une altération mécanique due à l'introduction des calculs rénaux dans le bassinet et au passage des éclisses urétérales. Pour ce faire, deux types de contrôles ont été utilisés. Un premier où le rein n'a subi aucun traitement (pas d'introduction d'éclisses urétérales et de calculs ni de perfusion avec les métaux lourds) et un second où l'on a étudié l'effet mécanique produit sur l'urothélium par le positionnement des calculs et des éclisses urétérales. Quant à l'effet chimique, celui-ci fut étudié par la perfusion du métal seul, c'est-à-dire qu'il n'y a pas eu d'introduction de calculs rénaux, seules les éclisses servant à la perfusion étaient présentes. Pour avoir une idée globale des altérations probables sur l'urothélium, nous avons combiné l'effet mécanique et l'effet chimique (perfusion du métal, éclisses urétérales, calculs rénaux).

Pour l'établissement des contrôles, des éclisses urétérales et des calculs furent

introduits dans un des reins de l'animal tandis que l'autre rein ne subissait aucun traitement. L'animal fut sacrifié immédiatement après l'installation des cathéters et calculs et les reins furent prélevés. Pour le rein non traité, on sectionna l'uretère à environ 10 cm du rein afin de comparer l'uretère non traité à l'uretère traité (calculs et/ou éclisses urétérales et/ou métaux). Notons que la préparation de l'animal à la chirurgie ainsi que le positionnement des éclisses urétérales et calculs étaient identiques aux perfusions *in vivo* (voir D, p.12). Pour l'étude de l'effet chimique seul, le procédé était identique aux perfusions *in vivo* mis à part l'absence des calculs des voies urinaires et des radiographies. De plus les concentrations des métaux utilisés furent de 5 %. Les contrôles chimiques furent effectués avec des solutions de Renografin-76 et de Renacidine 10 %. En ce qui a trait à l'effet total (mécanique et chimique), la technique employée fut celle de la perfusion *in vivo*. A la fin des perfusions, l'animal fut sacrifié et on effectua le prélèvement des reins.

Suite au prélèvement des reins, des coupes ont été effectuées au niveau de l'uretère (partie proximale: 2-3 cm du rein), du bassinnet (portion médiane) et du calice (parties proximale et distale) puis préparées pour la microscopie optique.

Microscopie optique: il y eut fixation des tissus à l'aide de formaldéhyde 10 % pendant 24 heures puis déshydratation à l'alcool éthylique. Un éclaircissement fut effectué en présence de xylène. Les tissus furent plongés dans de la paraffine et mis sous forme de blocs. Des coupes de 5 microns ont été réalisées à l'aide d'un microtome. Il y eut coloration des tissus avec hématoxyline-éosine et observation des lames.

G) Etudes d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd :

- i) Courbes standards pour ^{137}Cs et ^{153}Gd**
- ii) Perfusion *in vivo* avec ^{137}Cs et ^{153}Gd sans obstruction rénale**

La technique de perfusion utilisée dans cette partie demeura similaire à celle décrite auparavant (voir D, p.12). Pour des raisons pratiques, les éclisses urétérales ont été remplacées par des cathéters disposables (infusion du métal: PE90 et sortie de l'urine: PE 160). Suivant l'emplacement des cathéters et l'obtention de débits urinaires variant de 0.5 à 1.0 ml/min., 25 ml de Cs 5% en p/v contenant 100 μCi ^{137}Cs fut perfusé dans un rein seulement à l'aide d'une pompe à infusion-retrait à un rythme de 0.94 ml/min. L'autre rein servit à déterminer la clairance rénale de l'isotope en cas de passage dans le sang par réabsorption au niveau du rein perfusé. Suite à la perfusion, on effectua un rinçage de 30 minutes avec du NaCl 0.9%. Puis on laissa l'animal éliminer la radioactivité pendant une période approximative de 4 à 5 heures. Spécifions qu'il n'y eut plus aucune infusion via l'uretère mais seulement une infusion de NaCl 0.9% via la veine céphalique afin de favoriser la formation d'urine et donc l'élimination de l'isotope. Environ 1.0 à 1.5 l fut infusé pendant l'expérience d'une durée totale approximative de 8 heures (temps nécessaire à la chirurgie, la perfusion et l'élimination).

Des contrôles sanguins furent effectués avant le début de la perfusion puis à intervalles de 2 minutes pendant les 10 premières minutes de perfusion, à intervalles de 5 minutes pour les 20 dernières minutes de perfusion et à 20 minutes d'intervalle jusqu'à la fin de l'expérience. L'écart entre les prises sanguines fut augmenté et le volume des

prélèvements limité à 2 ml afin d'éviter une diminution importante du volume sanguin. La méthode de prélèvement des échantillons sanguins était la suivante: un cathéter intraveineux était introduit dans la veine saphène et un adaptateur Vacutainer muni d'un baril Vacutainer (protection contre l'aiguille de l'adaptateur) était fixé au cathéter. On procéda à la prise sanguine à l'aide d'un tube collecteur Vacutainer de 3 ml héparinisé. On prit également des échantillons d'urine pour les deux reins avant le début de la perfusion et aux 10 minutes dès le départ de la perfusion jusqu'à la fin de l'expérience. Le volume d'urine de chaque aliquot prélevé fut noté. Les pH urinaires et sanguins ont été surveillés pendant l'expérience.

Avant le sacrifice de l'animal, nous avons pris une dizaine d'échantillons sanguins (1 ml) et un aliquot d'urine (10-25 ml) et nous avons évalué le contenu radioactif à l'aide d'un compteur γ . Tout ceci fut fait en vue d'évaluer approximativement la quantité de radioactivité dans le sang et l'urine. On sacrifia l'animal par surdose de pentobarbital et on préleva les organes présentant une radioactivité importante (compteur Geiger). Ces organes furent par la suite dissous à l'aide de KOH (3 à 4 fois la masse de l'organe). Suivant la dissolution, le volume total fut mesuré et 3 aliquots de 1 ml comptés sur compteur gamma. De cette façon, la radioactivité présente dans chaque organe pu être évaluée plus précisément. Le protocole expérimental fut le même pour l'isotope ^{153}Gd

iii) **Perfusion *in vivo* avec ^{137}Cs et ^{153}Gd avec obstruction rénale**

L'arrangement des cathéters fut différent comparativement aux perfusions *in vivo* (voir D, p.12). Pour l'administration de l'isotope, nous avons choisi un cathéter relativement court dans le but de diminuer le volume mort. Le cathéter de sortie

(intramédique PE 160) fut subdivisé en 2 parties à l'aide d'un adaptateur à 3 voies. Une partie servant à la sortie d'urine et l'autre partie servant à évaluer la pression lors de l'obstruction rénale. On relia le cathéter de pression à un mètre afin de noter les variations de pression avec obstruction rénale. A noter que les cathéters et le mètre ont été placés au même niveau que les reins de l'animal (voir figure 7).

Suite au cathétérisme, nous nous sommes assurés de l'état des reins en vérifiant le débit urinaire. Des échantillons d'urine et de sang furent prélevés avant l'injection de l'isotope. Dans un des reins, on injecta 500 μ l de bleu de méthylène directement dans le cathéter d'infusion à l'aide d'une seringue à tuberculine de 1 ml. Cette opération nous a permis de vérifier le fonctionnement des cathéters d'infusion et de sortie. De plus, en bloquant la sortie d'urine quelques secondes, le cathéter de pression était immédiatement coloré. Ceci facilitait la lecture des changements de pression lors de l'obstruction rénale. Lorsque le bleu de méthylène s'est retrouvé entièrement dans l'urine, nous avons procédé à l'injection de l'isotope. 100 μ Ci de ^{137}Cs en présence de 200 μ l de bleu de méthylène (pour suivre la radioactivité) et 25 mg de Cs (quantité nécessaire à l'obtention d'une concentration de 5%) fut injecté lentement dans le même rein à l'aide d'une seringue à tuberculine de 1 ml. Un rinçage avec 500 μ l de NaCl 0.9% fut effectué afin de diminuer l'adsorption du radio-isotope au niveau du cathéter. Après vérification, il ne restait plus de ^{137}Cs au cathéter après rinçage. Pendant l'injection, le cathéter de sortie était bloqué à proximité du rein dans le but de prévenir la perte immédiate de radioactivité par l'urine. Immédiatement après l'injection, nous avons ouvert le cathéter de sortie, bloqué la sortie d'urine et ouvert le cathéter de pression. On nota les variations de pression (exprimées en cm d'urine). On préleva des échantillons de sang et d'urine aux mêmes intervalles

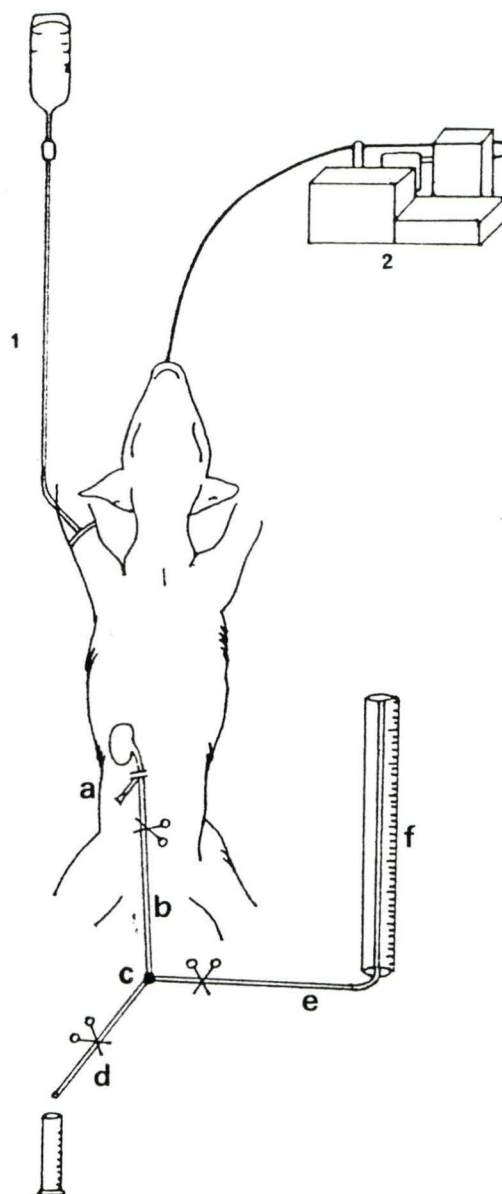


Figure 7. Montage utilisé lors des perfusions in vivo avec le ^{137}Cs et le ^{153}Gd avec obstruction rénale.

De la saline physiologique était infusée via la veine céphalique (1). Les fonctions respiratoires de l'animal furent assurées à l'aide d'un respirateur (2). Pour administrer l'isotope, un cathéter court a été mis en place afin de diminuer le volume mort (a). Le cathéter de sortie (b) a été divisé en 2 parties à l'aide d'un adaptateur à 3 voies (c). Une partie servait à la sortie d'urine (d) et l'autre pour l'évaluation de la pression lors de l'obstruction rénale (e). Un mètre fut placé pour mesurer les variations de pression en cm d'urine (f).

déterminés lors des perfusions sans obstruction rénale. Ces intervalles étaient respectivement de 2, 5 et 20 minutes pour les 10 premières minutes de la perfusion, les 20 dernières minutes de la perfusion et le reste de l'expérience.

Nous avons laissé monter la pression à 70 cm d'urine puis l'avons maintenue à ce niveau pendant 30 minutes en ouvrant le système à l'aide d'une seringue de 60 ml placé au bout du cathéter de pression à 70 cm de hauteur. L'obstruction rénale fut terminée en libérant la sortie d'urine et en bloquant le cathéter de pression. On laissa l'animal éliminer le plus de radioactivité possible pendant 4 à 5 heures. Nous avons contrôlé l'urine et le sang à intervalles réguliers, prélevé les organes les plus radioactifs (foie, reins) et fait leur dissolution comme pour les perfusions sans obstruction rénale. Le processus fut identique pour le ^{153}Gd . Spécifions qu'un seul rein était obstrué à chaque expérience.

H) Scintigraphie au ^{153}Gd

Suivant l'anesthésie, l'animal (chien d'environ 11 kg) a été injecté avec 1 mCi de ^{153}Gd via la veine céphalique. Une scintigraphie fut établie à 5 min, 35 min, 1.5, 3, 4, 12, 24 hres, 6 jrs, 20 jours après l'injection de l'isotope.

Dès 24 heures, les fèces et l'urine furent vérifiées à l'aide d'un compteur Geiger, et des aliquots furent prélevés et comptés sur compteur gamma. On pu ainsi suivre l'élimination de la radioactivité par l'organisme. Cette vérification du contenu radioactif des fèces et de l'urine a été faite pendant 7 jours.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Choix des agents opacifiants des calculs des voies urinaires

Le succès d'une chirurgie sur les calculs des voies urinaires est assuré seulement si le rein et les voies urinaires sont totalement libres de calculs. Le taux de récurrence et de complication est directement relié à une extraction incomplète des calculs suivant la chirurgie (MORRIS et FISHER, 1986). Les seuls moyens de confirmer l'absence ou la présence de calculs dans les voies urinaires sont les techniques radiologiques. Elles sont cependant limitées par la grosseur du fragment de calcul et/ou son opacité (DAVIDSON, 1985; KELLUM et coll., 1987). Sans méthodes de détection plus sensibles, un taux de récurrence relativement élevé est une conséquence directe de ces diagnostics imprécis. Ces derniers sont responsables de la présence de calculs résiduels, non détectés pendant la chirurgie.

Suivant notre hypothèse une augmentation de la radio-opacité des calculs minéraux des voies urinaires devrait accroître leur visibilité fluoroscopique générale durant toute chirurgie des calculs des voies urinaires. Cette méthode devrait également permettre la distinction de petits fragments de l'ordre de 2 à 5 mm de diamètre. De plus, ces fragments sont généralement trop petits pour être détectés par l'ultrasonographie et la fluoroscopie mais sont encore capable d'induire une récurrence de l'urolithiase.

Notre approche consisterait en l'utilisation de solutions de sels de métaux lourds comme agents radio-opacifiants des calculs des voies urinaires. Elle a été dictée par la

nature chimique des calculs et la masse atomique requise pour les éléments radio-opaques. Nous estimons que l'incorporation spécifique d'un élément lourd dans la matrice des calculs de calcium-oxalate et/ou calcium, magnésium-ammonium-phosphate serait produite par une réaction cationique spécifique ou encore une réaction de précipitation. Le choix des agents fut dirigé sur les métaux de la 3^e période ayant des numéros atomiques généralement supérieurs à 54. Ceux-ci forment des oxalates et phosphates insolubles et espère-t-on ne suscitent pas d'effets toxiques sur l'urothélium. Les lanthanides ou terres rares dont les numéros atomiques sont de 58 à 71 et le lanthanum furent tout d'abord étudiés. Furent également considérés le Barium et Strontium (analogues du calcium) du groupe II des éléments, l'yttrium du groupe III (analogue du lanthanum), le césium (analogue du potassium) du groupe I des éléments et les actinides naturels uranium et thorium de la période IV (analogues des lanthanides). Uranium et thorium offrent les meilleurs milieux de contraste vu leurs masses atomiques très élevées (232.04 et 238.03 g/mole respectivement). Ils seraient adéquats comme modèles expérimentaux. Néanmoins, parce que l'uranium et le thorium sont trop radioactifs, ils ne peuvent pas être utilisés en clinique. Les sels solubles de barium sont connus comme étant toxiques systématiquement (WETHERILL et coll., 1981) mais aucune preuve de leur toxicité sur l'urothélium n'a pu être prouvée. Les sels de barium et de strontium ont aussi été inclus dans cette étude. L'ion tungstate (WO_4^{2-}), un anion de métal lourd formant des sels insolubles de calcium et de magnésium fut aussi considéré pour rehausser la radio-opacité des calculs des voies urinaires. Puisque toxiques, d'autres métaux de masse atomique élevée n'ont pu être retenus malgré le fait qu'ils pouvaient former des oxalates et phosphates insolubles, ex.: plomb, thallium, mercure et cadmium.

Incubations *in vitro* de calculs rénaux (sans urine)

Les expériences *in vitro* avec les fragments de struvite incubés en présence de solutions aqueuses de métaux lourds ont démontré plusieurs rehaussements importants de la radio-opacité. Elles ont aussi montré de grandes incorporations en métaux lourds jusqu'à 40 % p/p. Au tableau 2, sont présentés les résultats obtenus avec les incubation *in vitro* de fragments de calculs de struvite provenant du même calcul géant des voies urinaires. En général, une bonne corrélation existe entre le taux d'incorporation et le rehaussement de la radio-opacité pour tous les composés testés. De bons résultats ont été obtenus avec les éléments du groupe II, soient le strontium (Sr) et le barium (Ba), analogues du calcium (voir figure 8a). Parmi les éléments du groupe III, l'yttrium (Y) a démontré une faible incorporation et radio-opacification (voir figure 8b). Le lanthanum (La), les premiers lanthanides: cérium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), et samarium (Sm) n'ont donné que peu ou pas d'effet (voir figure 8b). Par contre, de bonnes incorporations et radio-opacifications furent obtenues avec deux lanthanides: gadolinium (Gd) et ytterbium (Yb) (figure 8c). Les autres lanthanides: europium (Eu), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm) et le plus rare, lutetium (Lu) ont donné le même effet mais avec une efficacité moindre (figures 8c et 8d). Fait intéressant à mentionner, chez les lanthanides, l'opacité du calcul varie en fonction de la masse atomique du métal. En prenant Eu comme référence, nous observons que les métaux de masse atomique inférieure (Ce, Pr, Nd, Sm) radio-opacifient de moindre façon. On constate le même phénomène avec La. Quant à eux, les métaux de masse atomique supérieure (Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) rehaussent davantage la radio-opacité des calculs. D'autre part, les actinides naturels thorium (Th) et uranium (U) ont produit des

résultats étonnants, provoquant une radio-opacification presque totale (figure 8e). Pour le tungstate de sodium (WO_4^{2-}), aucune incorporation ni radio-opacification des fragments de calculs n'ont pu être relevées (figure 8e). Les composés témoins: Renografin-76 (agent de contraste conventionnel en radiologie), nitrate de potassium, iodure de potassium ne produisent aucune incorporation ni rehaussement de la radio-opacité (figure 8e, tableau 2). Théoriquement, le césium (Cs, groupe I des éléments) qui est un analogue du potassium ne devrait pas augmenter la radio-opacité puisque le potassium (contrôle) ne l'élève pas. Expérimentalement, le césium a été incorporé par le fragment de calcul et l'a radio-opacifié contrairement à la théorie. D'ailleurs, le césium démontre une réactivité importante vis-à-vis plusieurs composantes tissulaires (MESSIHA, 1984) et suivant les résultats expérimentaux, le césium interagit également avec des composantes minérales des calculs des voies urinaires.

Certains métaux parmi les lanthanides et actinides ont la propriété de fluorescer sous rayons ultraviolets. Chez les lanthanides ce sont Eu et Tb qui démontrent une fluorescence rouge-orangé et verte respectivement. Pour les actinides, c'est U dont la fluorescence verte est la plus intense comparativement aux lanthanides cités. Un exemple est montré en figure 9 où un fragment de struvite a été incubé en présence d'uranium. On peut observer le rehaussement de la radio-opacité du calcul traité vis-à-vis le non traité, la coloration différentielle à la lumière naturelle d'un fragment avant et après incubation et la fluorescence verte marquée sous ultraviolets d'un calcul traité à l'uranium. La fluorescence pourrait donc être un moyen supplémentaire pour vérifier l'incorporation du métal au calcul en plus de la radiographie et de la spectrométrie de fluorescence à rayons X. D'ailleurs les calculs incubés en présence de Eu, Tb, et U qui démontrèrent

Tableau 2. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Métal	N.A.	M.A.	Incorporation	Radio opacif.	n
K	19	39.10	0	0	3
Sr	38	87.62	++	++	11
Y	39	88.91	+	+	5
I	53	126.90	0	0	14
Cs	55	132.91	++	++	8
Ba	56	137.34	+++	++	8
La	57	138.91	0	0	10
Ce	58	140.12	0	0	4
Pr	59	140.91	+	+	4
Nd	60	144.24	+	0	10
Sm	62	150.35	+	+	6
Eu	63	151.96	++	++	4
Gd	64	157.25	++	++	10
Tb	65	158.92	+	+	8
Dy	66	162.50	+	+	6
Ho	67	164.93	+	+	6
Er	68	167.26	+	+	4
Tm	69	168.93	+	+	2
Yb	70	173.04	+++	++	13
Lu	71	174.97	+	+	2
W (WO ₄ ²⁻)	74	183.85	0	0	8
Th	90	232.04	+++	+++	6
U	92	238.04	+++	+++	7
Reno-76	-	809.00	0	0	4

N.A. est le numéro atomique, M.A. est la masse atomique et n est le nombre d'expériences. Les valeurs d'incorporation furent déterminées par la spectrométrie de fluorescence à rayons X sur des calculs réduits en poudre sont exprimées de la façon suivante: +++ pour une incorporation supérieure à 20 % en p/p, ++ pour une incorporation entre 10 et 20 %, + pour une incorporation entre 2 et 10 %, et 0 indique une incorporation inférieure à 2 %. Après observation des radiographies, la radio-opacification est exprimée comme: 0 = pas de changement, + = densité légèrement plus élevée, contours du calcul visibles, ++ = densité très élevée, très bon contraste, +++ = presque totalement radio-opaque.

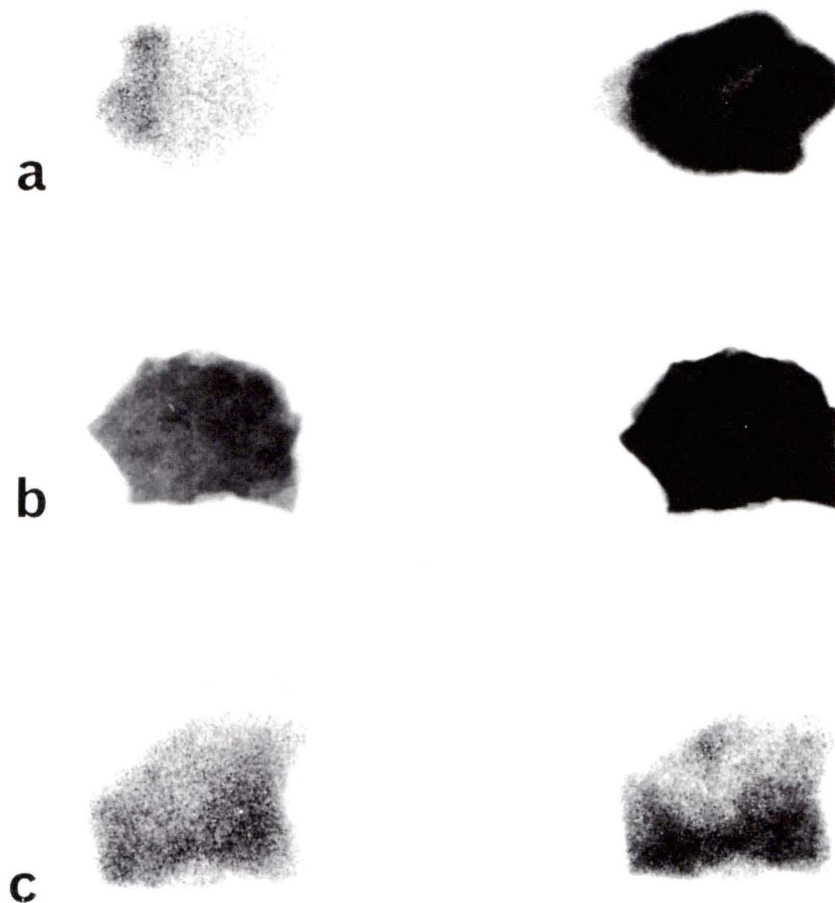


Figure 8a. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Les fragments de struvite ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5%. En *a* c'est le traitement au Sr, *b* au Ba et *c* au Y. La radio-opacification obtenue en *a*, *b* correspond à ++ (comme pour le tableau 2), et en *c* à +.

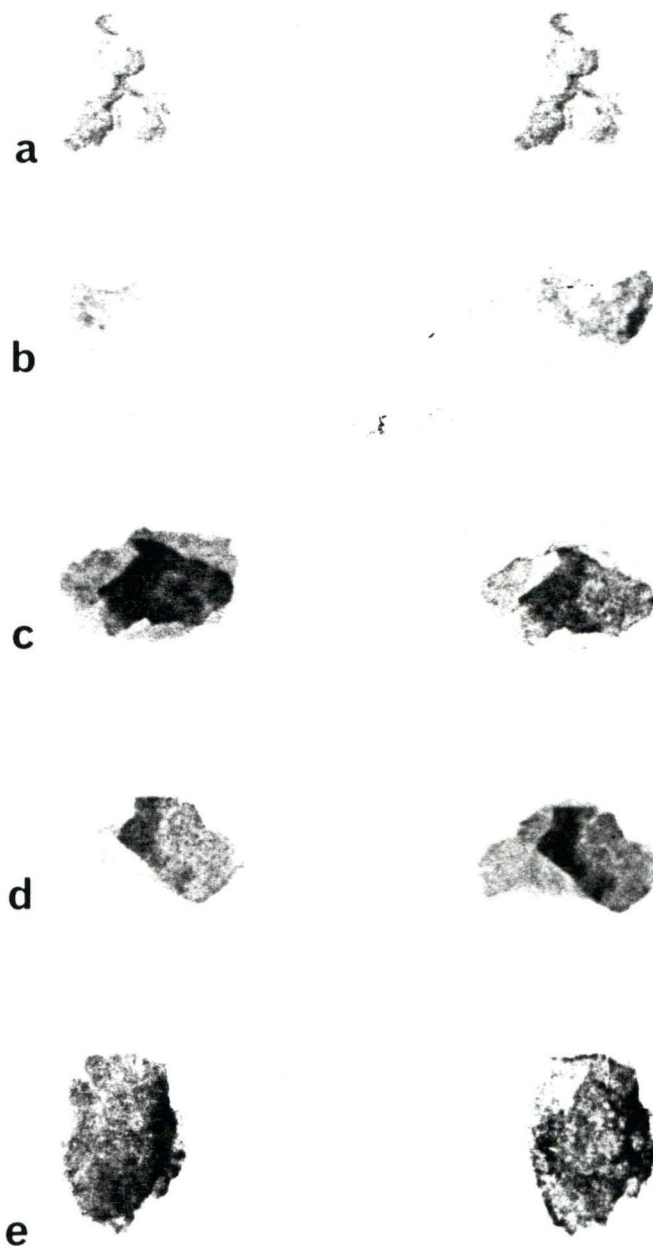


Figure 8b. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Les fragments de struvite ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a* c'est le traitement au La, *b* au Ce, *c* au Pr, *d* au Nd et *e* au Sm. La radio-opacification obtenue en *a*, *b*, *d* correspond à 0 (comme pour le tableau 2), en *c* et *e* à +.

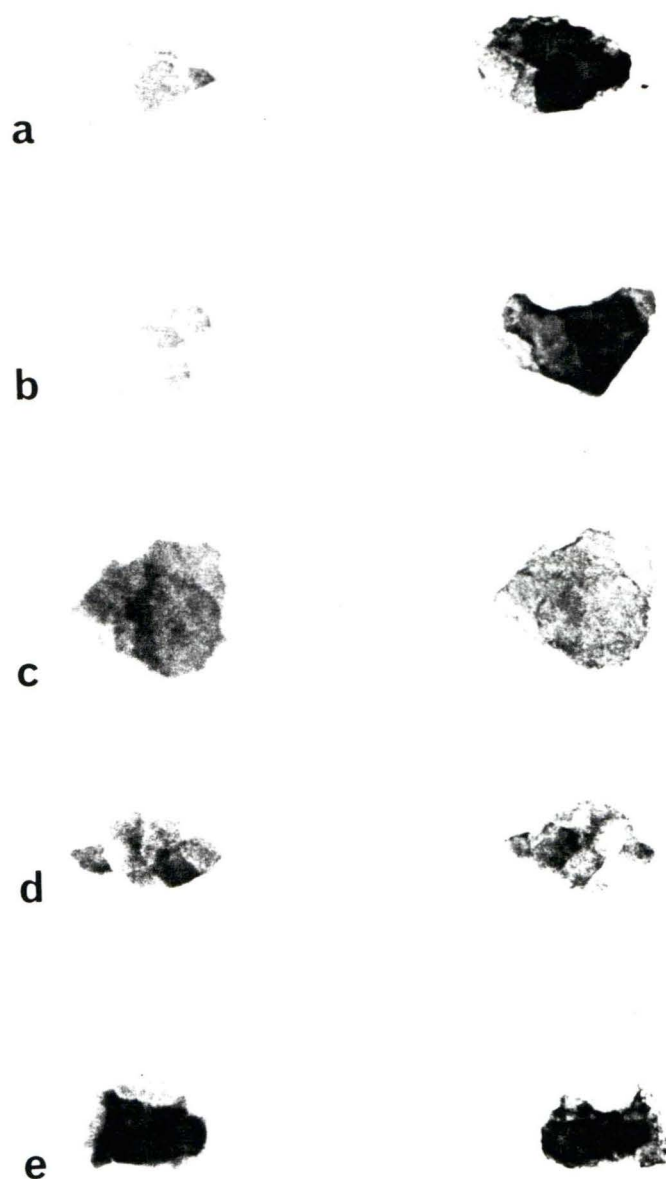


Figure 8c. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Les fragments de struvite ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a* c'est le traitement au Gd, *b* au Yb, *c* à Eu, *d* au Tb et *e* au Dy. La radio-opacification obtenue en *a*, *b* correspond à ++ (comme pour le tableau 2), en *c*, *d*, *e* à +.

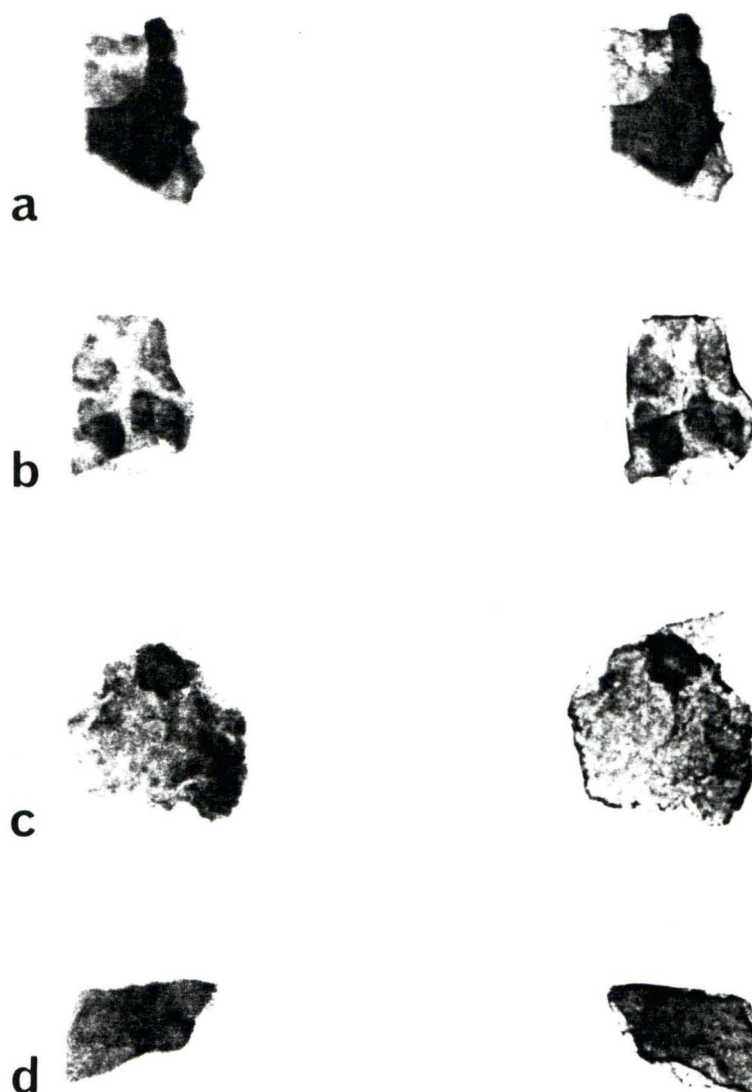


Figure 8d. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Les fragments de struvite ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a* c'est le traitement au Ho, *b* au Er, *c* au Tm et *d* au Lu. La radio-opacification obtenue en *a*, *b*, *c*, *d* correspond à + (comme pour le tableau 2).

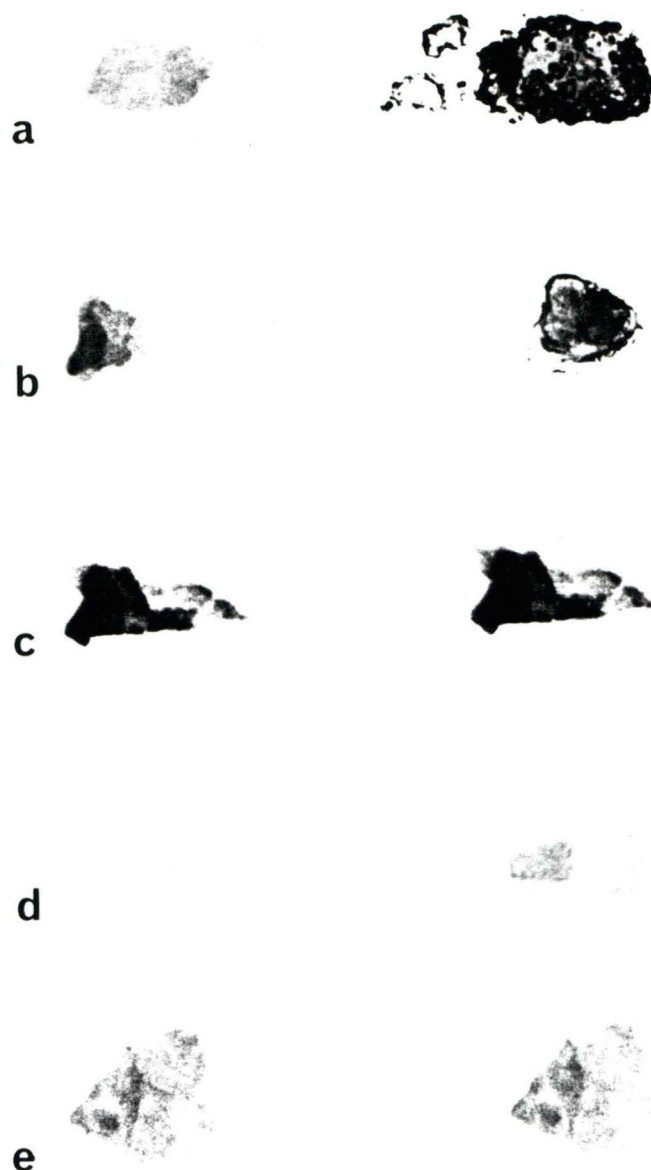


Figure 8e. Incubations *in vitro* de fragments de struvite.

Les fragments de struvite ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a* c'est le traitement au Th, *b* à U, *c* à WO_4^{2-} , *d* à Renografin-76, *e* au K. La radio-opacification obtenue en *a*, *b* correspond à +++ (comme pour le tableau 2), en *c*, *d*, *e* à 0.

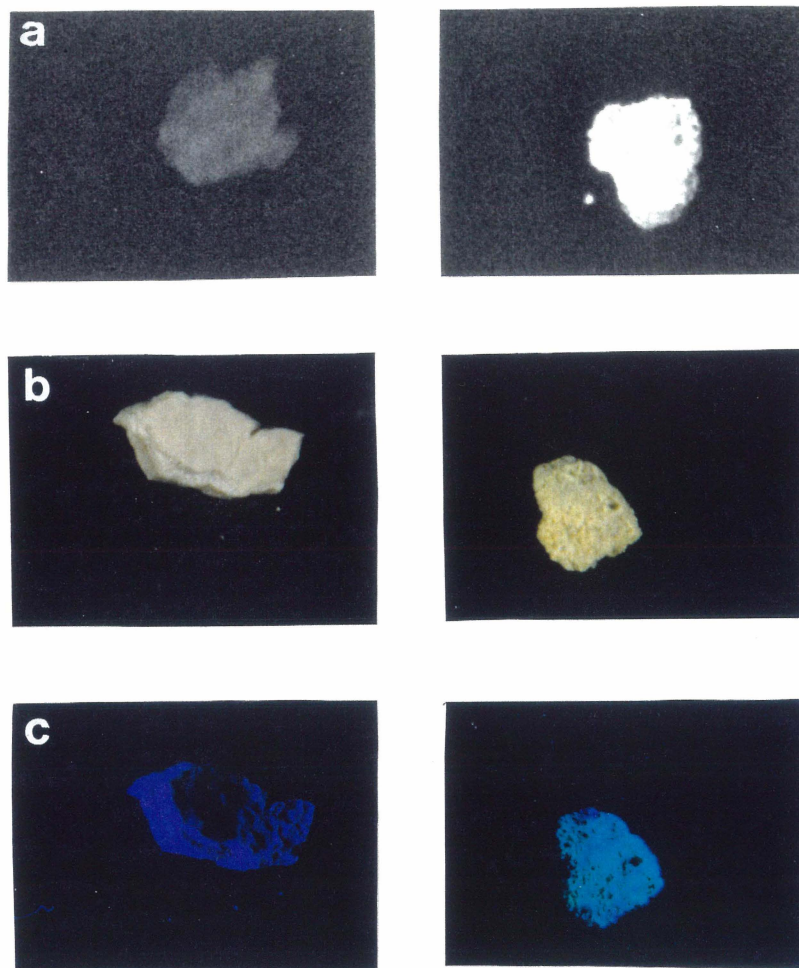


Figure 9. Visualisation différentielle d'un fragment de struvite incubé en présence d'uranium.

Le fragment de struvite a été incubé avec de l'uranium 2.5 %. A gauche: avant incubation, à droite: après incubation. En a: radiographie qui démontre l'élévation de la radio-opacité du fragment, en b: la coloration différentielle à la lumière naturelle, en c: la fluorescence verte du fragment sous ultraviolets.

une radio-opacification (radiographie) et incorporation (spectrométrie de fluorescence à rayons X) étaient également fluorescents.

En résumé, l'analogue du potassium (Cs), les analogues du calcium (Ba, Sr), les lanthanides à masse atomique supérieure (Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) et les actinides (U, Th) ont amélioré la radio-opacité des calculs des voies urinaires. Jusqu'ici, ces éléments peuvent être envisagés comme agents radio-opacifiants potentiels des fragments de calculs.

Des incubations avec des calculs formés majoritairement d'acide urique ont également été faites. Ces calculs sont radio-transparents et beaucoup plus rares que les struvites et oxalates de calcium et phosphates de calcium (DAVIDSON, 1985). Les calculs de struvite (magnésium-ammonium-phosphate) pour la plupart, contiennent du phosphate de calcium et de l'oxalate de calcium. Contrairement aux struvites, les calculs d'acide urique sont dépourvus de calcium (DAVIDSON, 1985). Les incubations avec tous les métaux lourds et témoins cités précédemment n'ont donné aucune radio-opacification, ni incorporation. De tels résultats pourraient être expliqués par le manque d'ions calcium, magnésium et autres. Ces ions étant nécessaires à l'échange cationique entre le métal et le calcul ou encore à la réaction de précipitation sur le calcul. On peut ainsi constater la spécificité de réaction des métaux utilisés envers les ions divalents Ca^{2+} et Mg^{2+} pour rehausser la radio-opacité des calculs des voies urinaires.

Incubations *in vitro* de calculs rénaux (avec urine)

Certaines incubations avec des solutions aqueuses de métaux lourds ayant été probantes, ces incubations furent reprises en présence d'urine, l'urine étant le milieu endogène où sont générés les calculs. On fit des incubations avec Gd et Yb, deux des lanthanides ayant donné les meilleurs résultats. Aucunes radio-opacification ni incorporation ne furent observées (voir figure 10). Aucun résultat positif n'a pu être obtenu avec les actinides (U, Th) (voir figure 10). Les actinides, qui auparavant radio-opacifiaient presque totalement les calculs, n'ont pu être efficaces avec un milieu contenant de l'urine. Vu le peu de réactivité des agents ayant donné les meilleures radio-opacifications et incorporations en absence d'urine, on mit fin aux incubations en présence d'urine.

L'hypothèse la plus plausible concernant la perte de réactivité des métaux par rapport aux fragments de struvite est la suivante. Il y aurait précipitation immédiate des métaux en présence d'urine en milieu statique d'incubation (cette dernière contenant des concentrations importantes de carbonates), ceci diminuant la quantité de métal libre disponible pour la radio-opacification. D'ailleurs, l'augmentation de la turbidité du milieu témoignerait d'une telle précipitation. Cette hausse de la turbidité ne peut résulter d'une contamination bactérienne puisque les milieux d'incubations et leurs contenus ont tous été stérilisés aux rayons γ .

Dans tous les types d'incubations effectuées, il n'y eu aucune augmentation du poids des calculs après traitement avec les différents métaux et contrôles. On pourrait alors envisager l'échange cationique, proposé antérieurement, comme mécanisme



Figure 10. Incubation *in vitro* de fragments de struvite en présence d'urine.

Les fragments de calculs ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) incubation en présence d'urine avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a*, c'est le traitement au Yb avec urine, *b* au Th avec urine. La radio-opacification a été nulle dans les 2 cas.

réactionnel. Fait important à noter: le modèle emprunté dans cette partie du projet est statique. Les calculs ne sont pas encore placés dans un milieu où du liquide circule continuellement comme c'est le cas dans un rein. Il se peut que des inhibiteurs de dépôt endogènes contenus dans l'urine (pyrophosphate, glycoprotéines) exercent un effet accru dans un milieu statique, provoquant ainsi une diminution notoire de l'adsorption des métaux aux calculs.

Cependant, la réaction de précipitation n'est pas à écarter totalement. Une très fine couche de métal se déposant à la surface du calcul pourrait ne pas augmenter significativement la masse du calcul. Il arrive par surcroît que les fragments de calculs se désagrègent légèrement suite aux manipulations. Ceci pourrait également expliquer le fait qu'il n'y a pas d'augmentation du poids des fragments suivant les incubations.

Perfusions *in vitro* de calculs rénaux isolés.

Des perfusions *in vitro* ont été par la suite entreprises avec les métaux ayant démontré un potentiel adéquat de radio-opacification. Cette étape ajoute une variable hydrodynamique au modèle statique précédent (incubations *in vitro*). Afin d'éviter les problèmes rencontrés lors des incubations avec urine, une dilution de l'urine s'avèra nécessaire. En diluant l'urine, la concentration des carbonates est diminuée et par conséquent la précipitation des métaux lourds d'autant réduite. Les fragments de calculs de struvite proviennent toujours du même calcul géant utilisé lors des incubations.

Parmi les métaux testés, le Ba a démontré une radio-opacification et incorporation significatives (voir figure 11, tableau 3). On obtint de bonnes incorporations et radio-opacifications avec les lanthanides de masse atomique supérieure (Gd, Dy, Yb, Lu) (voir figure 11, tableau 3). Néanmoins leurs niveaux d'intégration ont semblé diminuer. Cette atténuation pourrait être artéfactuelle et résulter de la fragilité des calculs, ceux-ci se désagrégeant sous l'effet combiné de la pression et du mouvement du milieu de perfusion. Quant à eux, les actinides (U, Th) ont démontré une fois de plus des niveaux d'incorporation et d'opacification plus qu'adéquats (voir figure 11, tableau 3). Comme pour les incubations *in vitro* (voir tableau 2), aucun résultat concluant ne fut obtenu avec La, Nd et W_4^{2-} . Le nitrate de potassium, l'iodure de potassium et la renografin-76 (contrôles) ne donnèrent aucun résultats positifs (voir figure 11, tableau 3).

Le modèle utilisé nous a semblé fonctionnel puisque nous avons obtenu un débit urinaire pendant près d'une heure. Cependant le débit était faible, résultant probablement d'une nécrose tubulaire ou d'une hypoxie. Les opacifications obtenues à ce stade prouve que les métaux peuvent s'adsorber aux calculs dans un milieu dynamique.

Perfusions extracorporelle de calculs rénaux dans des cavités excrétrices (reins) de chiens.

Le perfusion *in vitro* des calculs dans des reins de chiens isolés est l'étape intermédiaire entre la perfusion *in vitro* des calculs seuls et leur perfusion dans l'animal vivant. Pour vérifier le fonctionnement du modèle, quelques métaux parmi les plus révélateurs (Th, U,) ont été employés. Le niveau de turbulence étant relativement plus

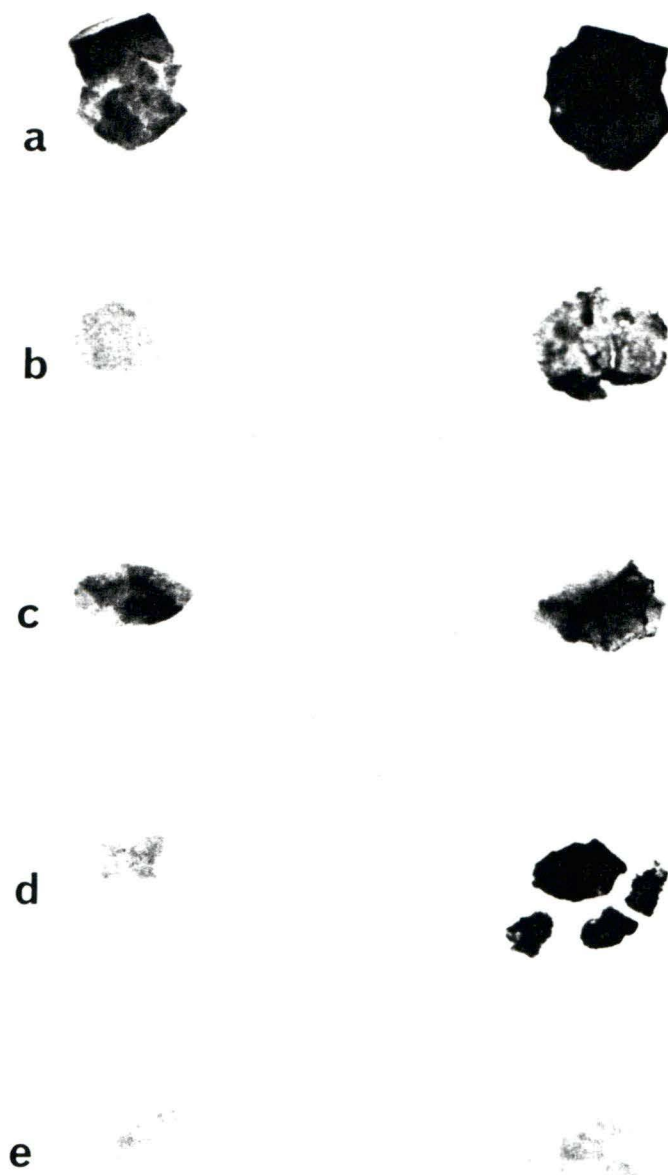


Figure 11. **Perfusions *in vitro* de fragments de struvite.**

Les fragments de calculs ont été radiographiés avant (gauche) et après (droite) perfusion avec les sels de métaux lourds correspondants. La concentration de ces solutions était de 2.5 %. En *a* c'est le traitement au Ba, *b* au Gd, *c* au Lu, *d* à U et *e* au K. La radio-opacification obtenue en *a*, *b* correspond à ++ (comme pour le tableau 3), en *c* à +, en *d* à +++ et en *e* à 0.

Tableau 3. Perfusions *in vitro* de fragments de struvite.

Composé	Incorporation	Radio-opacification	n
K	0	0	2
Ba	++	++	2
La	0	0	2
Nd	0	0	2
Gd	++	++	2
Dy	+	+	2
Yb	++	++	2
Lu	+	+	2
WO ₄ ⁻	0	0	2
Th	+++	+++	2
U	+++	+++	2
Reno-76	0	0	2

L'incorporation fut évaluée par la spectrométrie de fluorescence à rayons X sur des calculs réduits en poudre: +++ pour une incorporation supérieure à 20 % p/p, ++ pour une incorporation entre 10 et 20 %, + pour une incorporation entre 2 et 10 %, et 0 indique une incorporation inférieure à 2 %. Après observation des radiographies, la radio-opacification est exprimée comme: 0 = pas de changement, + = densité légèrement plus élevée, contours du calcul visibles, ++ = densité très élevée, très bon contraste, +++ = presque totalement radio-opaque. n est le nombre d'expériences.

élevé, des calculs plus durs composés d'oxalate et de phosphate de calcium ont du être utilisés. Les calculs de struvite s'étant décomposés lors des perfusions *in vitro* antérieures.

Expérimentalement, le débit veineux étant régulier, le modèle choisi se révélait à première vue adéquat. Toutefois le débit urinaire n'était qu'à peine perceptible. Malgré le faible débit urinaire, nous avons infusé la solution métallique via l'uretère. Le débit urinaire résultant était inférieur à celui de l'infusion du métal. Ce maigre débit urinaire témoigna d'une probable déficience fonctionnelle du rein bien que ce dernier fut perfusé avec des quantités importantes de liquide.

Après récupération des calculs traités à l'uranium, nous avons noté une légère radio-opacification (voir figure 12), incorporation (voir tableau 4) et fluorescence. Le taux d'incorporation peut sembler faible comparativement aux incubations où l'on obtenait jusqu'à 38 % p/p d'incorporation en uranium. L'analyse d'incorporation par spectrométrie de fluorescence à rayons X se révèle difficile pour ces perfusions. Lors des incubations, des fragments relativement gros (5 mm de diamètre) étaient employés. Pour les perfusions, les fragments de calculs ne dépassaient pas 3 mm de diamètre. 3 mm étant la grandeur limite pour l'insertion dans l'uretère. De plus un nombre restreint de calculs peuvent être introduits dans le rein. Ainsi un trop grand nombre de calculs pourraient créer une obstruction et affecter sérieusement la perfusion. La grandeur et le nombre de calculs nous sont imposés. La récupération entière des fragments insérés dans le rein n'est pas toujours possible. La spectrométrie de fluorescence à rayons X nécessite un échantillonnage suffisamment élevé afin de pouvoir réduire les calculs en poudre et former



Figure 12. **Perfusion *in vitro* de calculs dans des reins de chiens.**

Radiographie de fragments de calculs à base de calcium après perfusion à l'uranium 2.5 %. La faible radio-opacification obtenue sur 2 des 4 fragments est indiquée par les flèches.

une pastille homogène de ces calculs. Avec un échantillonnage limité il ne peut y avoir réduction des calculs sous forme de poudre, l'analyse d'incorporation est moins adéquate. Il en découle un taux d'incorporation inférieur. Un autre facteur pouvant contribuer à une faible radio-opacification et incorporation est la déficience fonctionnelle du rein dans ce modèle. Les calculs traités au Th ne donnèrent aucune radio-opacification et incorporation valables (voir tableau 4). Les raisons de l'échec des perfusions étant celles citées précédemment. Vu l'inefficacité de ce modèle expérimental, nous avons dû passer à un modèle de perfusion *in vivo* chez le chien.

Perfusions *in vivo* de calculs rénaux dans des reins de chiens

L'application d'une technique de rehaussement de la radio-opacité des calculs des voies urinaires chez l'homme nécessite, *a priori*, un rapprochement de la situation clinique réelle. Nous devons, pour cela, introduire des fragments de calculs dans les reins d'un animal. Aussi, en travaillant sur l'animal vivant, on s'assure du bon fonctionnement des reins. Les résultats des perfusions avec les différents métaux sont présentés au tableau 5.

Des essais furent tout d'abord entrepris avec les actinides (Th, U). Th et U étant les métaux les plus révélateurs parmi tous ceux testés. Lorsque perfusé *in vivo*, le Th semble élever la radio-opacité des calculs des voies urinaires et augmenter le contraste du bassin et des calices du rein (voir figure 13a). Il devient donc difficile de discerner les fragments de calculs dans un système collecteur entièrement radio-opaque. Dans le

Tableau 4. **Perfusions *in vitro* de calculs rénaux dans des cavités excrétrices (reins) de chiens.**

Métal	Radio opacification	Incorporation	n
Th	+/-	60 ppm	2
U	+/-	3.11 % p/p	2

L'incorporation est évaluée par la spectrométrie de fluorescence à rayons X sur des calculs intacts ou réduits en poudre. Après observation des radiographies, la radio-opacification est exprimée comme: +/- = très peu ou pas d'élévation de la densité. n est le nombre d'expériences.

Tableau 5. Perfusion *in vivo* de calculs rénaux.

Métal	Incorporation	Radio-opacification	Δ d.o.	n
Cs	++	++	+0.14	5
Sr	++	+	+0.10	1
Ba	+	++	+0.06	1
Eu	++	pas de radiographie	-	2
Gd	+	++	+0.09	3
Tb	+	pas de radiographie	-	1
Dy	+	0	+0.03	2
Yb	++	+ à ++	+0.07	5
Th	0	non spécifique	-	2
U	0	non spécifique	-	2

Le taux d'incorporation des métaux lourds dans les fragments de calculs contenant du calcium a été déterminé par la spectrométrie de fluorescence à rayons X. Pour l'analyse, les calculs étaient intacts ou réduits en poudre. Le taux d'incorporation est exprimé par le rapport Métal-sur-calcium en % de p/p. ++ indique une incorporation supérieure à 10 %, + entre 2 et 10 %, et 0 indique une incorporation inférieure à 2 %. Après observation des radiographies, la radio-opacification fut qualifiée comme suit: ++ signifie une très bonne visibilité avec haut contraste, + bonne visibilité avec peu de contraste, 0 aucune amélioration de la visibilité des fragments. Δ d.o = densité optique après - densité optique avant. Les lectures de densité optique positives et supérieures à + 0.03 confirment la radio-opacification. n est le nombre d'expériences.

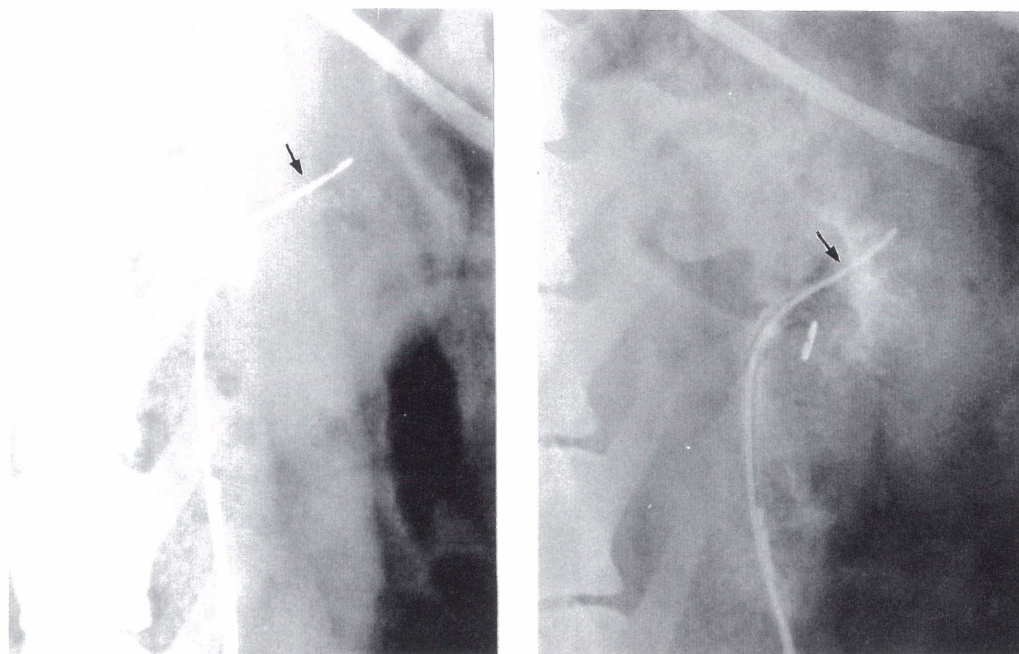


Figure 13a. Radiographie abdominale de fragments de calculs implantés.

Après implantation de fragments de calculs chez le chien, des radiographies abdominales ont été prises avant (gauche) et après (droite) perfusion au Th 2.5 %. La localisation des calculs est indiquée par les flèches.

but de diminuer le marquage non-spécifique (bassinets et calices), on effectua un rinçage du système collecteur. Même après un rinçage de 30 minutes, la majorité du Th est demeuré en place. De ce fait, le Th semble s'adsorber fortement à l'urothélium.

Suivant la perfusion du Th, les calculs furent récupérés et soumis à la spectrométrie de fluorescence à rayons X. L'incorporation du métal aux calculs fut faible (voir tableau 5). Ceci pourrait être dû à un échantillonnage insuffisant ou encore au marquage non-spécifique relativement élevé. La dernière hypothèse étant la plus probable dans ce cas. Ainsi le Th réagirait fortement avec l'urothélium ce qui diminuerait la concentration de l'actinide nécessaire à une radio-opacification adéquate des calculs.

Pour ce qui est de l'uranium, le même phénomène fut observé. Il y eut radio-opacification non-spécifique du système collecteur, ceci rendant la détection des fragments de calculs insérés difficile. Une faible incorporation (voir tableau 5) et une très légère fluorescence des calculs furent notées. Ces résultats confirmant le peu de radio-opacification spécifique obtenue. Dans un modèle *in vivo*, l'uranium comme le thorium, semblent s'adsorber davantage à l'urothélium qu'aux calculs. Des composantes membranaires (ex. glycoprotéines) pourraient lier plus ou moins spécifiquement ces métaux. Dans nos conditions expérimentales, ceci reste cependant à être vérifié. Les faibles incorporations obtenues lors des perfusions *in vitro* antérieures pourraient être expliquées par cette diminution d'affinité en plus des autres hypothèses formulées.

La fluorescence verte de l'uranium sous rayonnement ultraviolet n'est plus un atout. Le bassinets et calices devenant également fluorescents par un marquage non-

spécifique élevé. D'autres facteurs supplémentaires contribuent à la cessation d'emploi du thorium et de l'uranium. Entre autres, l'acidité de ces solutions. Par exemple, une solution de 5 % de Th a un pH de 2.3, ce qui est très acide. Le pH urinaire qui oscille entre 4.8 et 7.5 (CONSOLAZIO et al., 1963) en conditions normales chute à environ 2.5 pendant la perfusion. Ce faible pH peut être dommageable à l'urothélium. D'ailleurs, après la perfusion au Th ou à U, on observa une coloration grise de l'uretère, du bassin et calices. Les métaux ayant probablement oxydé les tissus. Un autre élément décourageant l'utilisation clinique des actinides est leur nature radioactive. Des agents contrastants non radioactifs et donc de toxicité moindre sont préférables. La toxicité des actinides est prouvée. En effet, l'uranium (uranyl nitrate) sert de modèle expérimental pour la production d'insuffisance rénale aiguë (STEFANOVIC, 1987). Bref, les actinides ont servi à l'élaboration du modèle expérimental. Leurs nombreux inconvénients (marquage non-spécifique, acidité, radioactivité, etc.) font qu'ils ne peuvent être utilisés à ce niveau.

Outre les actinides, quelques lanthanides de masse atomique supérieure furent étudiés. Des essais furent entrepris avec les deux lanthanides démontrant des propriétés de fluorescence sous ultraviolets (Eu, Tb). Un lanthanide à masse atomique intermédiaire (Dy) et les deux lanthanides les plus prometteurs (Gd, Yb).

Suivant la perfusion au Tb, une légère incorporation a été notée (voir tableau 5). Puisque le Tb est fluorescent sous ultraviolets, la matière qui capte suffisamment de ce métal devrait également fluorescer. Les calculs n'ont démontré aucune fluorescence et ceci corrobore la faible incorporation obtenue (échantillon adéquat pour l'analyse

spectrométrie). La radio-opacification proprement dite n'a pu être déterminée vu certaines restrictions techniques. La radiographie abdominale, n'était pas encore une procédure standard chez le chien.

L'euporium (Eu) s'intégra peu aux calculs insérés dans le bassinet rénal à en juger par le taux d'incorporation (voir tableau 5). La fluorescence de ces fragments ne fut pas observée. Chez un chien, on trouva quelques calculs endogènes au niveau du bassinet rénal. Cette découverte ne s'est faite que lors de l'extraction des fragments de calculs introduits. La radiographie abdominale chez le chien n'étant pas encore mise au point, il n'y avait aucun moyen de prévoir ces calculs endogènes. L'analyse des calculs endogènes par spectrométrie de fluorescence à rayons X démontra une intégration environ 6 fois supérieure à celle des calculs insérés. De plus, ces calculs endogènes étaient fluorescents. Comment expliquer l'excellente incorporation en Eu des calculs endogènes? Une captation du métal serait plus efficace avec un fragment natif et actif qu'avec un fragment déshydraté puis réhydraté. La nature du calcul lui-même aurait favoriser l'incorporation de l'euporium. Chez le canin, 74 % des calculs sont formés d'un mélange struvite (composante majeure) et d'apatite de calcium (composante mineure) (GRIFFITH et OSBORNE, 1987). Les struvites étant peu radio-opaques, ceux-ci n'auraient probablement pu être détectés par radiographie abdominale avant traitement. Par contre après la perfusion, ces derniers auraient pu être bien visibles sur radiographies. Cette observation est appuyée par l'incorporation et fluorescence élevées des fragments endogènes.

La fluorescence rouge-orangée de l'euporium peut se révéler inadéquate dans un

système vivant puisque le sang est aussi rouge. La distinction entre le sang et les calculs ayant incorporé de ce métal serait donc rendue difficile. Par conséquent, cette propriété de l'euporium ne peut plus être exploitée. Par contre la fluorescence verte du terbium permettrait la discrimination entre les fragments de calculs et leur milieu. Mais des résultats préliminaires d'analyse spectrométrique ont révélé de faibles taux d'incorporation en Tb des fragments de calculs. Le Tb ne semble pas adéquat dans un modèle *in vivo*.

Excepté pour la fluorescence, les résultats pour l'euporium sont encourageants. Ils le sont un peu moins pour le terbium. Néanmoins, les essais avec ces deux lanthanides n'ont pas été poursuivis. L'euporium et le terbium sont des métaux relativement dispendieux. Et pour les perfusions *in vivo* des quantités considérables de ces agents sont utilisés. Un produit de contraste idéal doit être à la fois non toxique et peu coûteux. Puisque le coût élevé de nouvelles substances oblige souvent à rationaliser leur utilisation, l'euporium et le terbium furent écartés.

Le Dy donna un faible taux d'incorporation et une radio-opacification à peine perceptible (voir tableau 5). Le rehaussement de la radio-opacité est proportionnel à l'incorporation. Le Dy s'est comporté de façon similaire aux incubations *in vitro* (faibles incorporation et radio-opacification) (voir tableau 2 et figure 8c). Vu le coût assez élevé du dysprosium et le faible rehaussement de radio-opacité, les recherches sur cet élément furent interrompues.

Les actinides ont été peu utiles pour les perfusions, mais furent très révélateurs pour les incubations. En général, les lanthanides Eu, Tb, Dy ont donné des résultats peu

significatifs lorsque perfusés. Cependant lors des incubations, il y eut rehaussement adéquat de la radio-opacité et incorporation, Ainsi les lanthanides Gd et Yb ayant produit des résultats intermédiaires en incubations pourraient s'avérer intéressants dans les perfusions *in vivo*.

Yb éleva la radio-opacité des fragments de calculs insérés (voir figure 13b). De bons taux d'incorporations furent aussi notés (voir tableau 5). Le bassin et calices n'ont pas subi de radio-opacification. Le marquage était spécifique. Pour la première fois depuis le début des perfusions, les résultats furent concluants. Le modèle expérimental paraissait fonctionner.

Le Gd s'incorpora de moindre façon (voir tableau 5) mais produit une bonne radio-opacification des calculs des voies urinaires et ce sans marquage du système collecteur (voir figure 13b). La diminution d'intégration pourrait être associée à un échantillonnage insuffisant pour l'analyse spectrométrique. Ceci expliquerait un rehaussement élevé de la radio-opacité en absence d'un haut taux d'incorporation.

Le Gd et Yb ont produit les résultats attendus et jusqu'ici sont les meilleurs produits de contraste. A l'opposé des autres lanthanides testés, ces derniers sont peu coûteux. De ces deux éléments, le gadolinium semble le plus prometteur car il est utilisé (sous forme de complexe chelate) comme agent de contraste en résonance magnétique nucléaire (CARR et coll., 1984; NELSON et RUNGE, 1989). Et de bons rehaussements de contraste ont été obtenus lors de tomographies axiales (CLAUSSEN et coll., 1985).

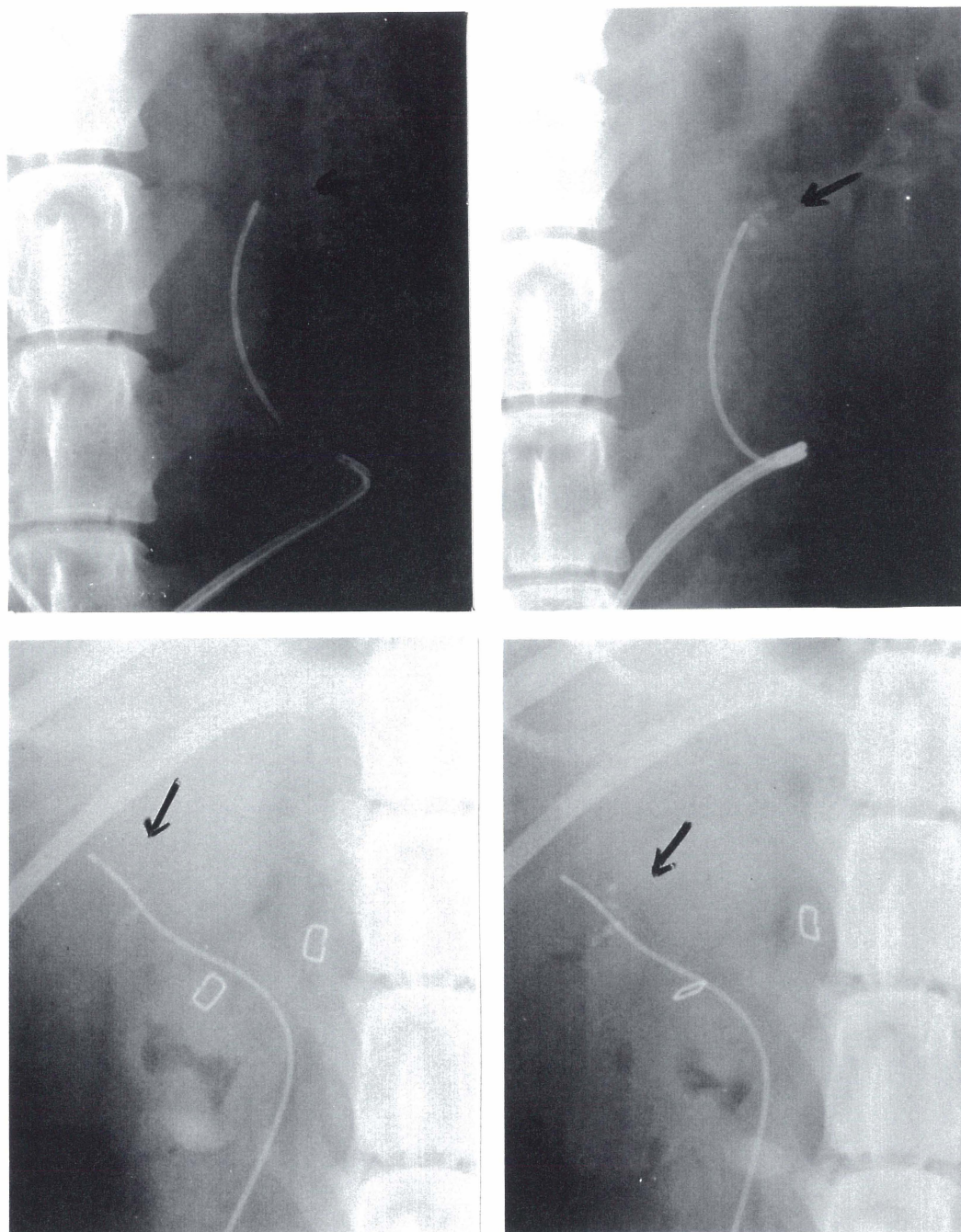


Figure 13b. Radiographie abdominale de fragments de calculs implantés.

Après implantation de fragments de calculs chez le chien, des radiographies abdominales ont été prises avant (gauche) et après (droite) perfusion aux sels de lanthanides. Les perfusions ont été effectuées au Yb 5 % (haut) et au Gd 2.5 % (bas). La localisation des calculs est indiquée par les flèches.

On testa les analogues du calcium (Ba, Sr). Le Ba radio-opacifia spécifiquement les calculs des voies urinaires (voir figure 13c). Le taux d'incorporation fut inférieur par comparaison au niveau de radio-opacification obtenu (voir tableau 5). Certes, la récupération entière des fragments n'a pas été possible ce qui a pu causer une diminution du taux d'incorporation. Pour le Sr, il y a eu élévation du contraste des calculs (voir figure 13c) et incorporation environ proportionnelle au rehaussement de la radio-opacité (voir tableau 5).

Bien qu'appropriés pour produire une radio-opacification *in vivo*, le Ba et Sr n'ont été étudiés que préliminairement. Les sels solubles de Ba ont une toxicité connue (WETHERILL et coll., 1981) et le Sr possède une masse atomique plus faible. Seul le sulfate de barium, insoluble, est non toxique et peut être employé comme milieu radio-opaque (CASARETT, 1975). Toutefois le sulfate de Ba ne possède pas les caractéristiques nécessaires à l'opacification des calculs des voies urinaires. Le Ba et Sr ont servi à l'élaboration du modèle expérimental.

Le Cs, un élément surprenant lors des incubations *in vitro* a été repris pour les perfusions. Celui-ci a produit une radio-opacification et une incorporation élevées (voir figure 13d et tableau 5). Néanmoins le Cs s'accrochait également aux calices et bassinet produisant ainsi un marquage non-spécifique. Mais en effectuant un rinçage de 30 minutes, le Cs s'éliminait du bassinet et calices sans pour autant se dissocier des calculs des voies urinaires. L'association du Cs à l'urothélium n'était donc pas aussi forte que celle qui existait entre le Cs et les fragments de calculs.

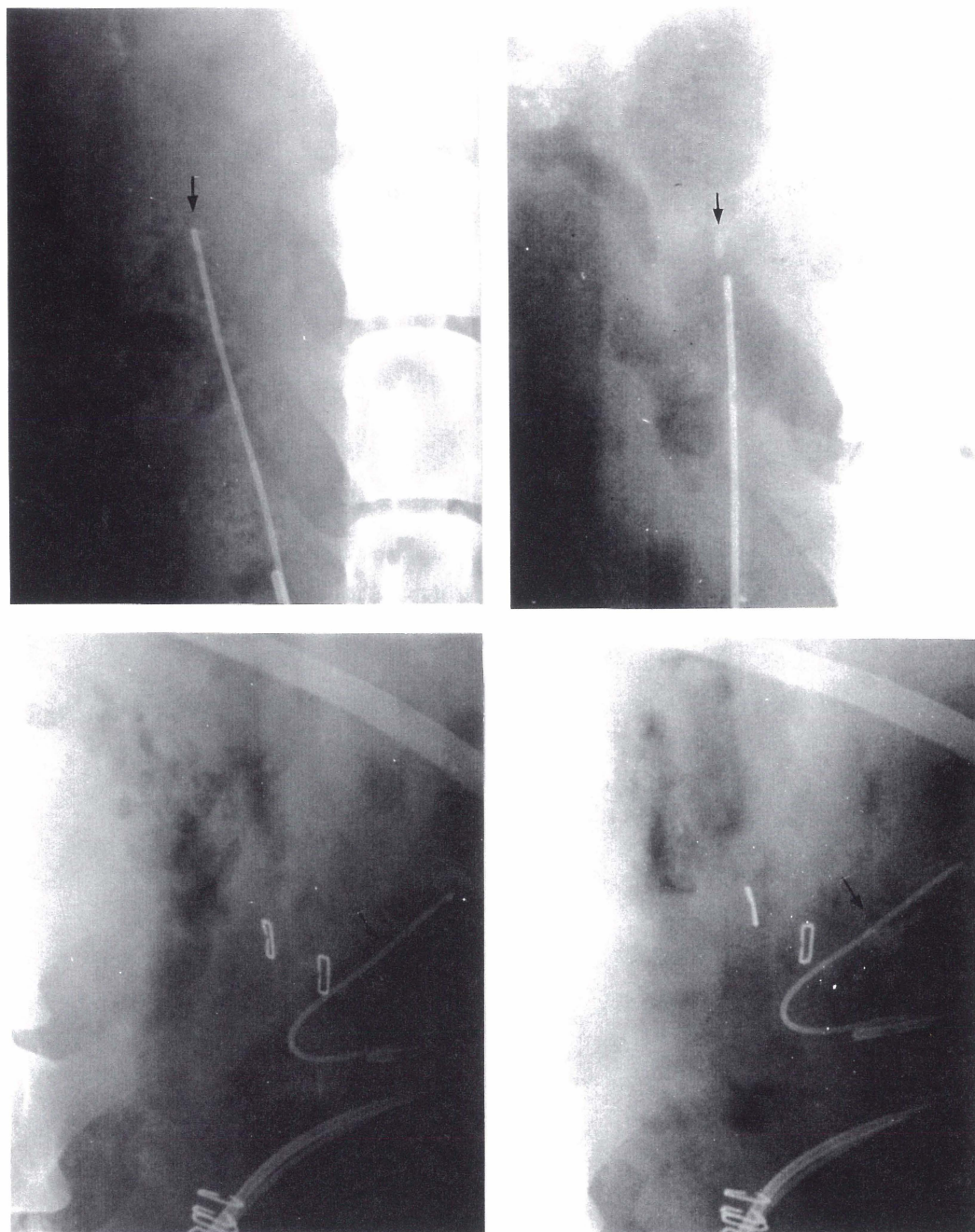


Figure 13c. Radiographie abdominale de fragments de calculs implantés.

Après implantation de fragments de calculs chez le chien, des radiographies abdominales ont été prises avant (gauche) et après (droite) perfusion aux sels de métaux lourds. Les perfusions ont été effectuées au Ba 5 % (haut) et Sr 5 % (bas). La localisation des calculs est indiquée par les flèches.

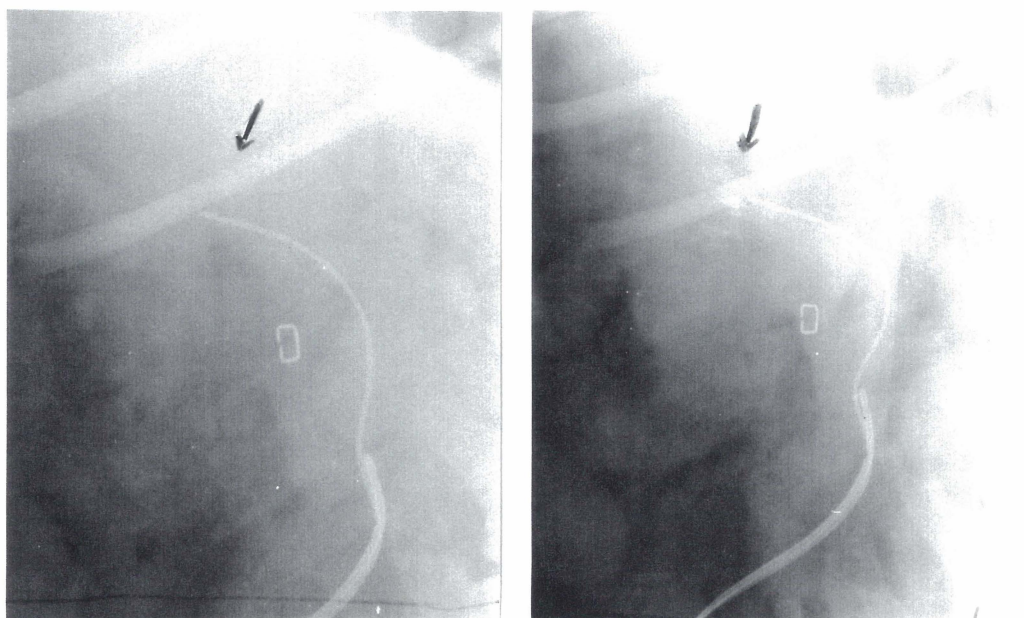


Figure 13d. Radiographie abdominale de fragments de calculs implantés.

Après implantation de fragments de calculs chez le chien, des radiographies abdominales ont été prises avant (gauche) et après (droite) perfusion au Cs 5 %. La localisation des calculs est indiquée par les flèches.

Notons que tous les métaux testés ayant donné une radio-opacification ont suscité des lectures de densité optique supérieures à +0.03 (voir tableau 5).

La forte réactivité du Cs nous a mené à déterminer la cinétique de sa radio-opacification. C'est-à-dire qu'on a voulu suivre l'évolution du rehaussement de la radio-opacité en fonction du temps. Nous avons pris des radiographies à intervalles de 15 minutes (sur une période de 2 heures) pendant la perfusion. Un exemple est montré en figure 14. Avant la perfusion, les calculs étaient peu opaques et étaient par le fait même difficiles à localiser. Après 15 minutes de perfusion seulement, le rein fut marqué. Les calculs n'étaient pas encore suffisamment radio-opaques pour être bien distingués. A 30 ou 45 minutes, les fragments de calculs introduits devinrent plus radio-opaques et purent être localisés adéquatement. Peu de changements survinrent entre 45 et 120 minutes de perfusion.

A 120 minutes, on nota un marquage plus dense par rapport à 45 minutes. Après ce temps de perfusion, on fit un rinçage de 30 minutes et les fragments de calculs ont été entièrement visibles. On put même les compter un à un. Il n'y avait plus aucune trace de radio-opacification non-spécifique. Si un rinçage avait été fait après 30 ou 45 minutes de perfusion, on aurait probablement eu les mêmes résultats. Peu de changements significatifs en intensité de radio-opacification ont été notés entre 45 et 120 minutes. A 30 ou 45 minutes, la réaction de radio-opacification était déjà adéquate pour le césium. D'ailleurs toutes ces observations sont corroborées par les lectures de densité optique prises sur les radiographies abdominales (voir figure 15). Ainsi le temps de perfusion initial de 2 heures pourrait être réduit considérablement. D'autres essais

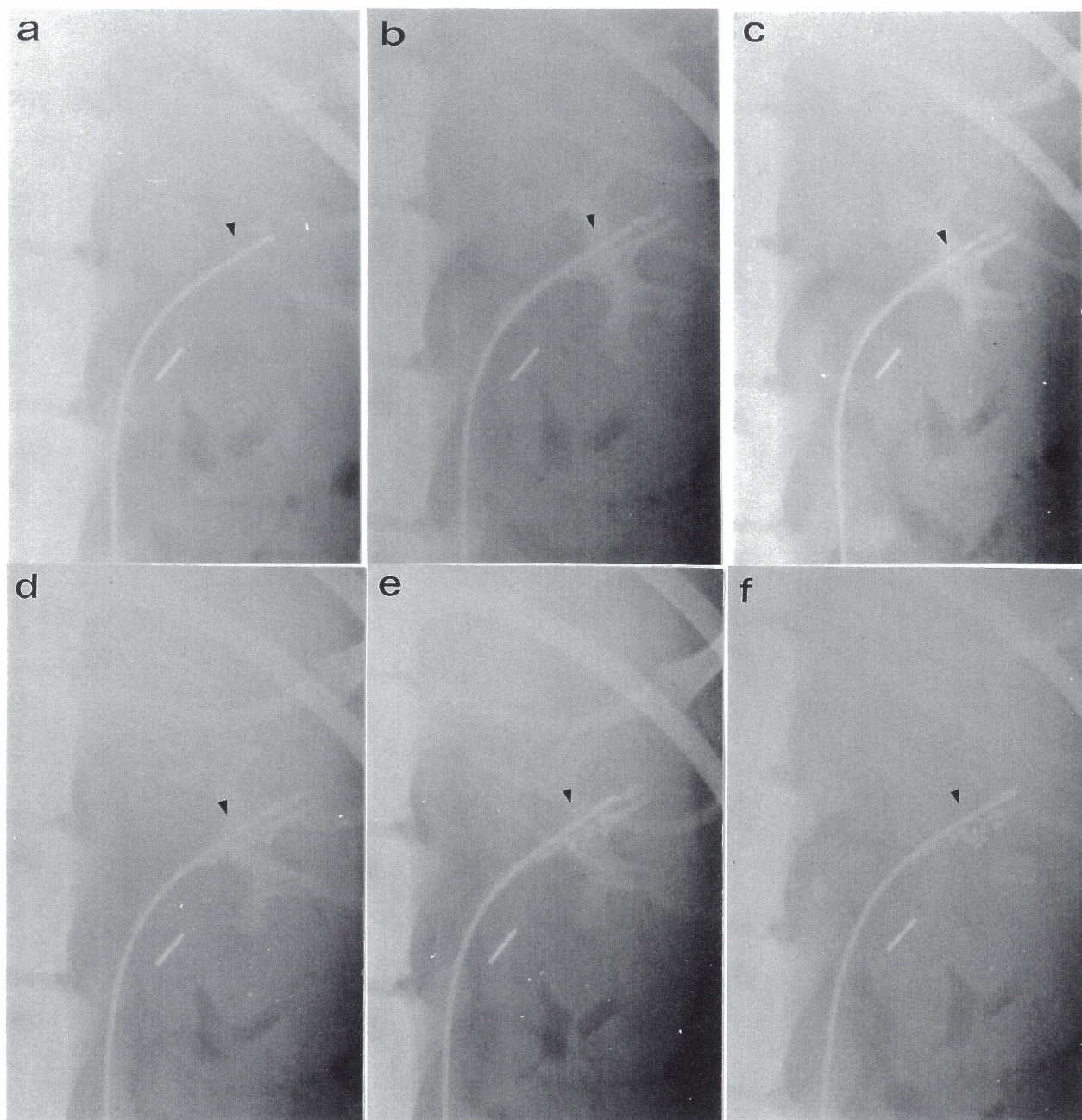


Figure 14. Cinétique de la radio-opacification des fragments de calculs avec le césium.

Après implantation de fragments de calculs chez le chien, des radiographies abdominales ont été prises avant, pendant et après la perfusion au Cs 5 %. *a* avant perfusion, *b* après 15 min. de perfusion, *c* après 30 min., *d* après 45 min., *e* après 2 heures, *f* après 30 min. de rinçage au NaCl 0.9 %. La localisation des calculs est indiquée par les flèches.

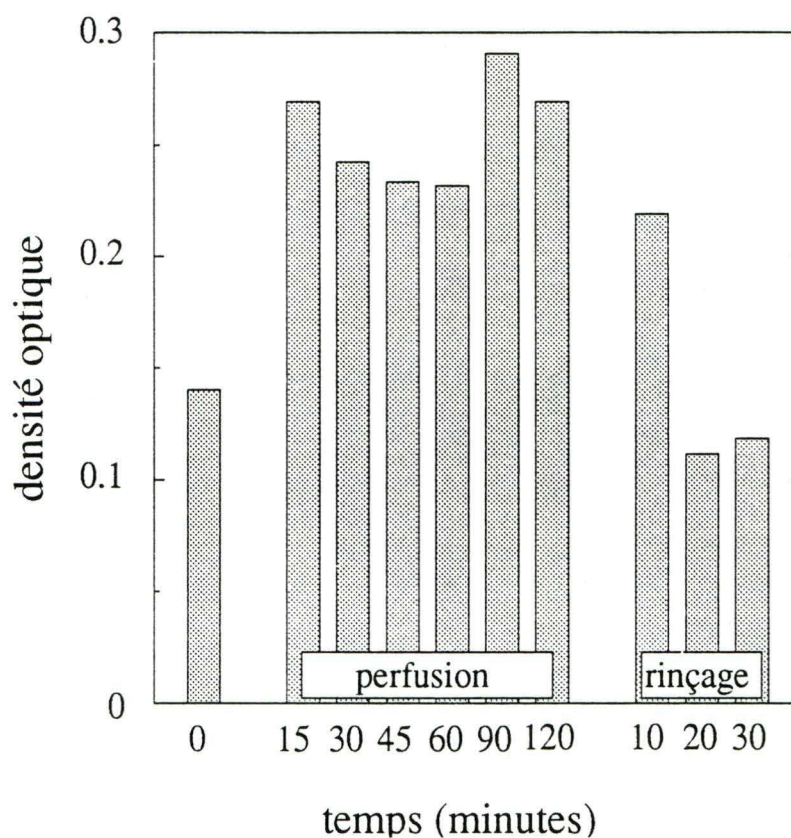


Figure 15. **Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le césium.**

Les valeurs de d.o. sont présentées en ordonnée. Elles ont été réalisées par densitométrie des zones caractérisant les calculs sur les radiographies abdominales prises: avant (initial), pendant la perfusion au Cs 5 % (15,30,45,75,90,105 et 120 min.) et après rinçage de 30 min. au NaCl 0.9 %.

s'avèrent nécessaires pour confirmer cette hypothèse (voir perfusions chez le chien chronique).

Pour toutes les perfusions mentionnées, les débits urinaires furent supérieurs aux débits d'infusion. Il y avait donc passage de liquide du plasma aux reins. Cela n'est possible qu'avec des reins fonctionnels. Les pH urinaires avant perfusion variaient entre 6.4 et 7.0. Pendant la perfusion avec les lanthanides (Gd 5 %, Yb 5 %), les pH urinaires chutèrent autour de 5.0 à 5.5. Aucun signe évident d'altération des tissus environnant le site de perfusion ne fut observé. Les solutions aqueuses de lanthanides (5 %) ont des pH situés en moyenne à 4.5. D'où la descente évidente du pH urinaire lorsque ces solutions sont perfusées. Les chutes de pH urinaires obtenus avec les lanthanides sont beaucoup moins prononcées que ceux des actinides. Rappelons que les pH des actinides lors de la perfusion étaient environ de 2.0. Un noircissement des tissus environnant le site de perfusion fut de plus noté. Un pH autour de 5.0 et même inférieur est rencontré dans la lithiase urique (HARRISON, livre). Le Cs à concentration de 5 % a un pH de 8.3. Avec perfusion, les pH urinaires s'établirent entre 7.0 et 7.8. Ces valeurs correspondent aux pH urinaires normaux (4.8 à 7.5) (CONSOLAZIO et al., 1983)

Les pH obtenus lors des perfusions ont varié en fonction des pH des métaux infusés, puisque le métal est infusé directement dans le bassinnet. L'urine résultante comporte une bonne proportion en métal. On observe généralement un pH intermédiaire entre celui de la solution métallique et celui de l'urine avant la perfusion. Les perfusions faites à des pH normaux (4.8 à 7.5) ne provoquèrent pas d'altérations évidentes de l'urothélium aux sites de perfusions. Toutefois, une étude mesurant l'effet des variations

rapides du pH sur l'intégrité de l'urothélium restent à faire.

Les pH sanguins enregistrés étaient normaux (7.4). Les osmolarités urinaires furent également enregistrées. Selon l'état d'hydratation de l'animal, les osmolalités avant perfusion étaient de l'ordre de 154 à 525 mOsm/Kg. Les osmolalités urinaires pendant les perfusions avec solutions de 5 % allaient de 190 à 630 mOsm/Kg. Les chiens traités ne souffrirent en aucun cas de déshydratation, l'osmolalité urinaire normale varie de 50 à 1400 mOsm/Kg selon l'état d'hydratation de l'organisme (CONSOLAZIO et al. 1963). Toutefois nous n'avons pas vérifié l'effet du pH et de l'osmolalité de l'urine sur le niveau d'adsorption des métaux aux calculs.

En résumé, le gadolinium, l'ytterbium et le césium sont les métaux à retenir pour le rehaussement éventuel de la radio-opacité des calculs des voies urinaires. L'osmolalité et le pH de l'urine des animaux traités avec ces métaux furent dans l'ensemble normaux. Aucune altération tissulaire notoire ne fut notée aux sites de perfusion.

Perfusion *in vivo* chez le chien chronique

Rappelons que lors d'une perfusion *in vivo*, des calculs endogènes furent trouvés. Ceux-ci démontrèrent une incorporation environ 6 fois supérieure aux fragments insérés. De plus les perfusions *in vivo* ont donné des résultats probants pour le gadolinium, l'ytterbium et le césium (voir tableau 5 et figures 13b et 13d). Considérant ces deux points, le concept d'une perfusion chez le chien chronique fut envisagé. Pour ce faire,

des fragments de calculs rénaux furent implantés au niveau du bassinnet rénal. Des tuteurs urétéraux furent également introduits afin d'éviter la descente des fragments de calculs dans l'uretère et d'assurer un flot urinaire adéquat. Le passage de plusieurs calculs dans l'uretère pourrait provoquer l'obstruction de l'uretère ayant comme conséquence la production de coliques chez le chien et possiblement de l'hydronéphrose si l'obstruction persiste. A l'opposé de l'obstruction, il y a l'expulsion spontanée des fragments de calculs inférieurs à 4 mm de diamètre (ROUS, 1987). Comme les fragments que nous employons sont de 2 à 4 mm de diamètre, l'expulsion pourrait se produire.

Pour démontrer que les métaux (Cs, Gd, Yb) pouvaient rehausser la radio-opacité des calculs, il nous fallait un nombre suffisant de fragments afin de les distinguer. Cependant, une expulsion provoquerait une réduction du nombre de calculs implantés au bassinnet. Le processus de radio-opacification serait indirectement affecté. Il y avait aussi une limite quant au nombre de fragments que l'on pouvait introduire au bassinnet (grandeur) sans complications (ex.: obstruction avec hydronéphrose). Nous avons maintenu en place les calculs implantés en utilisant un tuteur obstruant partiellement l'uretère. Suite à l'implantation des calculs, l'animal fut gardé pendant une période de 60 jours avant d'effectuer la perfusion. Ce laps de temps fut nécessaire à la récupération de l'animal, et surtout à la transformation des calculs fraîchement implantés vers un état plus endogène. En effet, les calculs à implanter proviennent de plus gros fragment prélevé chez l'homme. Ces fragments sont réduits et séchés avant utilisation. Ce processus altère l'enveloppe extérieure du calcul et peut fausser la dynamique d'adsorption des métaux. Nous devons donc nous assurer que les calculs implantés regagnent une composition et une morphologie les plus naturelles possibles. La diète riche en calcium prescrite à

l'animal, favoriserait cette transformation des calculs vers un état plus "endogène".

Pendant cette période, un suivi radiologique a été effectué afin de vérifier l'emplacement des fragments de calculs et/ou leur changement morphologique. Puisque les calculs étaient relativement opaques, nous avons pu observer sur les radiographies de petits déplacements des fragments au niveau du bassin et des calices. Mais tous les fragments introduits étaient encore en place. On suppose qu'aucune obstruction néfaste de l'uretère n'a été produite par ces déplacements, puisque les animaux présentaient un bon état général et urinaient normalement. De plus, aucune trace de sang ne fut décelée dans l'urine. Aucun changement morphologique ne fut noté. Il n'y eut aucune désaggrégation ou augmentation de la taille des calculs. Le processus de formation de cristaux amenant aux calculs urinaires est un processus rapide (SMITH, 1987). Donc dans l'intervalle de 2 mois, on aurait probablement pu détecter ces changements. Comme les chiens n'ont pas été placés sous régime alimentaire particulier, on ne favorisait ni la croissance ni la dissolution des fragments. Par exemple, si on avait pu sursaturer l'urine en calcium en donnant des suppléments calciques, on aurait pu accroître la taille des fragments. Toutefois en augmentant la taille des fragments, on élève encore plus la radio-opacité puisque le calcium est opaque. La perfusion avec les métaux lourds aurait donc été inutile. Aussi des modifications morphologiques auraient pu être observées si les animaux avaient présenté des désordres métaboliques.

A 60 jours, on effectua les perfusions avec du Cs 5 % et Gd 5 %. Les résultats sont résumés au tableau 6. Les lectures de densité optique pour cette partie sont très importantes puisque les calculs implantés étaient assez bien visibles au départ. En effet,

Tableau 6. **Perfusions *in vivo* de calculs rénaux chez le chien chronique.**

Métal	$\Delta d.o.$	Incorporation	n
Cs	+0.08	≥ 1	5
Gd	+0.07	≈ 1	3

Comme les calculs contenaient une forte proportion de calcium, la radio-opacification a été évaluée par des lectures de densité optique sur les radiographies. $\Delta d.o.$ = densité optique après - densité optique avant. Une densité optique positive supérieure à + 0.03 indique qu'il y a radio-opacification des fragments. Le taux d'incorporation a été déterminé par la spectrométrie de fluorescence à rayons X sur des échantillons intacts ou réduits en poudre. Le taux d'incorporation est exprimé par le rapport Métal-sur-calcium en % p/p. n est le nombre d'expériences.

les calculs disponibles contenaient une forte proportion en calcium (26 % d'oxalate de calcium, 47 % de phosphate de calcium, 26 % de struvite). Il fut donc plus difficile d'évaluer correctement le degré de radio-opacification obtenu suite aux perfusions. Une lecture de densité optique s'avéra nécessaire. Pour le Gd 5 % et Cs 5 %, on obtint des radio-opacifications des calculs urinaires. Les lectures positives de densité optique en constituaient une preuve (voir tableau 6). Nous avons eu une radio-opacification mais le taux d'incorporation fut faible. L'incorporation (≈ 1 %) dans les deux cas pourrait s'expliquer par divers facteurs. Notamment, il pu y avoir récupération incomplète des fragments réduisant la taille de l'échantillon. Même si tous les fragments avaient été retirés, l'échantillon serait demeuré insuffisant pour une analyse précise par spectrométrie. Un autre point est une trop longue durée de rinçage (30 minutes). Un rinçage trop extensif conduirait à la perte de métal par le calcul. Par exemple, après 10 minutes de rinçage, le marquage non spécifique par le Cs est éliminé. Après 30 min. de rinçage on diminue aussi la radio-opacité des fragments (chute de la densité optique, voir figure 16). La présence d'une matrice nouvellement formée sur les fragments implantés chez le chien chronique pourrait être en partie responsable de la diminution de la force de liaison spécifique du Cs. Un tel phénomène n'était pas perceptible lors des perfusions *in vivo* antérieures (pas de diminution de la radio-opacification après 30 min. de rinçage). Alors la radio-opacification a été évaluée au meilleur temps de rinçage soit 10 minutes, par contre l'incorporation n'a pu être évaluée qu'après le 30 minutes (extraction des fragments), une incorporation inférieure à la radio-opacification. Pour le gadolinium, il n'y a pas eu de diminution significative de la densité optique après 30 minutes de rinçage (voir figure 17). Un rinçage trop extensif était peu probable dans ce cas. On attribua alors la faible incorporation à un échantillonnage insuffisant.

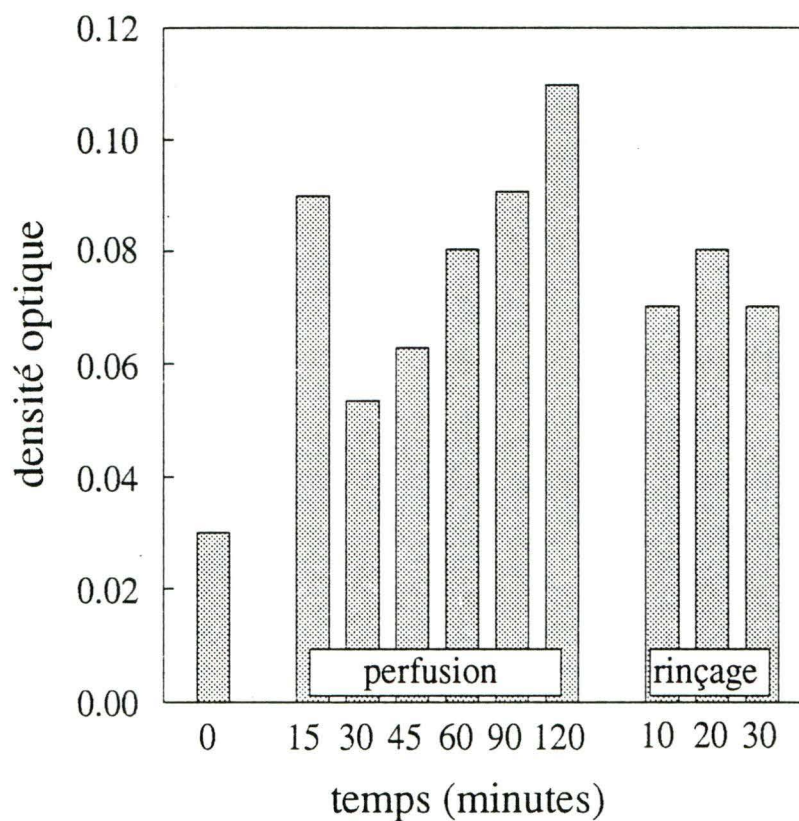


Figure 16. Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le césium (chien chronique).

Les valeurs de d.o. sont présentées en ordonnée. Elles ont été réalisées par densitométrie des zones caractérisant les calculs sur les radiographies abdominales prises: avant (initial), pendant la perfusion au Cs 5 % (15,30,45,60,90, et 120 min.) et après rinçage au NaCl 0.9 % (10, 20 et 30 min.). Les valeurs représentent la moyenne d'au moins 4 lectures obtenues d'expériences distinctes.

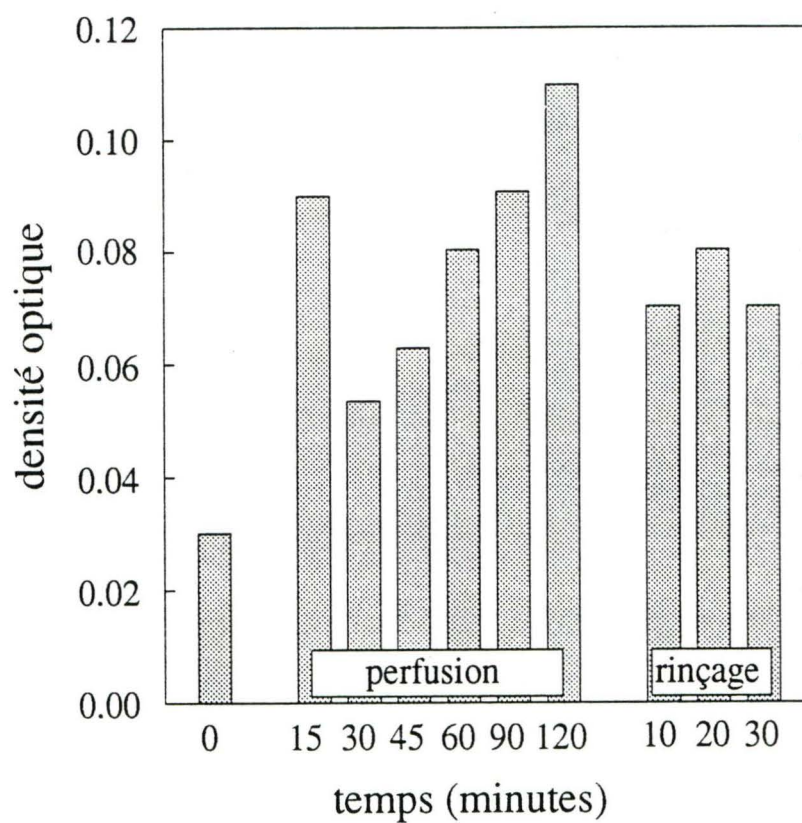


Figure 17. Quantification des lectures de d.o. obtenues lors de la mesure de la cinétique de radio-opacification des fragments de calculs avec le gadolinium (chien chronique).

Les valeurs de d.o. sont présentées en ordonnée. Elles ont été réalisées par densitométrie des zones caractérisant les calculs sur les radiographies abdominales prises: avant (initial), pendant la perfusion au Gd 5 % (15,30,45,60,75 et 150 min.) et après rinçage au NaCl 0.9 % (10,20 et 30 min.). Les valeurs représentent la moyenne d'au moins 4 lectures obtenues d'expériences distinctes.

Il est à noter que pour ces perfusions, des radiographies à intervalles de 15 minutes ont été prises. Ceci afin d'établir le temps minimal de perfusion nécessaire pour radio-opacifier les calculs des voies urinaires. D'ailleurs quelques essais avaient déjà été entrepris pour le Cs auparavant (voir perfusions *in vivo*). On avait alors obtenu un temps d'opacification de 30 à 45 minutes. Le temps optimal de perfusion déterminé à ce stade pour le Cs 5 % a été de 30 minutes comme démontré à la figure 16 selon l'élévation de la densité optique. Si on poursuivait la perfusion au-delà de 30 minutes, aucune élévation supplémentaire significative de la densité optique (radio-opacification) n'était notée. Seulement 30 minutes de perfusion au Cs 5 % fut nécessaire pour radio-opacifier les calculs. Pour le Gd 5 %, le temps optimal de perfusion établi a été de 60 minutes (voir figure 17). Les pH et osmolarités urinaires ainsi que les pH sanguins étaient normaux.

Dans ce modèle, davantage plus près de l'état endogène, nous avons obtenu de bonnes radio-opacifications des calculs avec des solutions de Cs 5 % et Gd 5 %. De plus le temps nécessaire à la production de cet effet fut réduit considérablement. Des 2 heures de perfusion initiale, nous sommes passés à 30 minutes et 1 heure respectivement pour le Cs et Gd.

L'échographie représente une méthode de localisation supplémentaire pour les calculs rénaux ou leurs fragments. Mais quelle est sa limite de détection? C'est ce que nous avons voulu vérifier en effectuant des échographies avant et après perfusion. Avant la perfusion, 4 à 6 fragments étaient visibles sur la radiographie alors que 0-4 fragments seulement étaient détectés par échographie. Après perfusion, la radiographie nous permis de localiser encore mieux les 4-6 fragments (radio-opacité), l'échographie ne localisait que

0-3 fragments. Un exemple de fragments de calculs détectés par échographie et radiographie chez un chien avant perfusion est montré à la figure 18. Les fragments que nous avons introduits avaient 2 à 4 mm de diamètre. Lorsque ceux-ci étaient radio-opaques, ils étaient nettement visibles sur radiographie abdominale. L'échographie quant à elle ne permettait pas de détecter adéquatement ces fragments ≤ 4 mm de diamètre. L'échographie est donc limitée par la grosseur des calculs (limite de détection autour de 4 mm de diamètre) et dans le cas de fragments multiples par l'hyperéchogénéité (KELLUM et coll., 1987).

Evaluation morphologique de l'urothélium après traitement avec divers métaux

Le Cs, Gd, Yb ont radio-opacifié les calculs des voies urinaires. Cependant il faut s'assurer que ces métaux sont dépourvus d'effets toxiques avant d'envisager une application clinique. Une évaluation morphologique de l'urothélium a donc été faite afin d'y mesurer l'impact du Cs, Gd et Yb.

Comme contrôles, nous avons en premier lieu le rein qui n'a subi aucun traitement (il n'y eut aucun calculs d'introduits, de cathéters ou de perfusion). L'épithélium de l'uretère, des calices et du bassinet étaient normaux (figure 19). L'épithélium normal comporte 5 à 6 couches de cellules. Un autre contrôle fut celui où l'on a introduit des calculs et des cathéters seulement. Une altération mécanique de l'urothélium due au passage des calculs et des cathéters pourrait alors être décelée. Pour l'uretère, il y eut perte de quelques couches épithéliales superficielles jusqu'à la perte de la plupart de

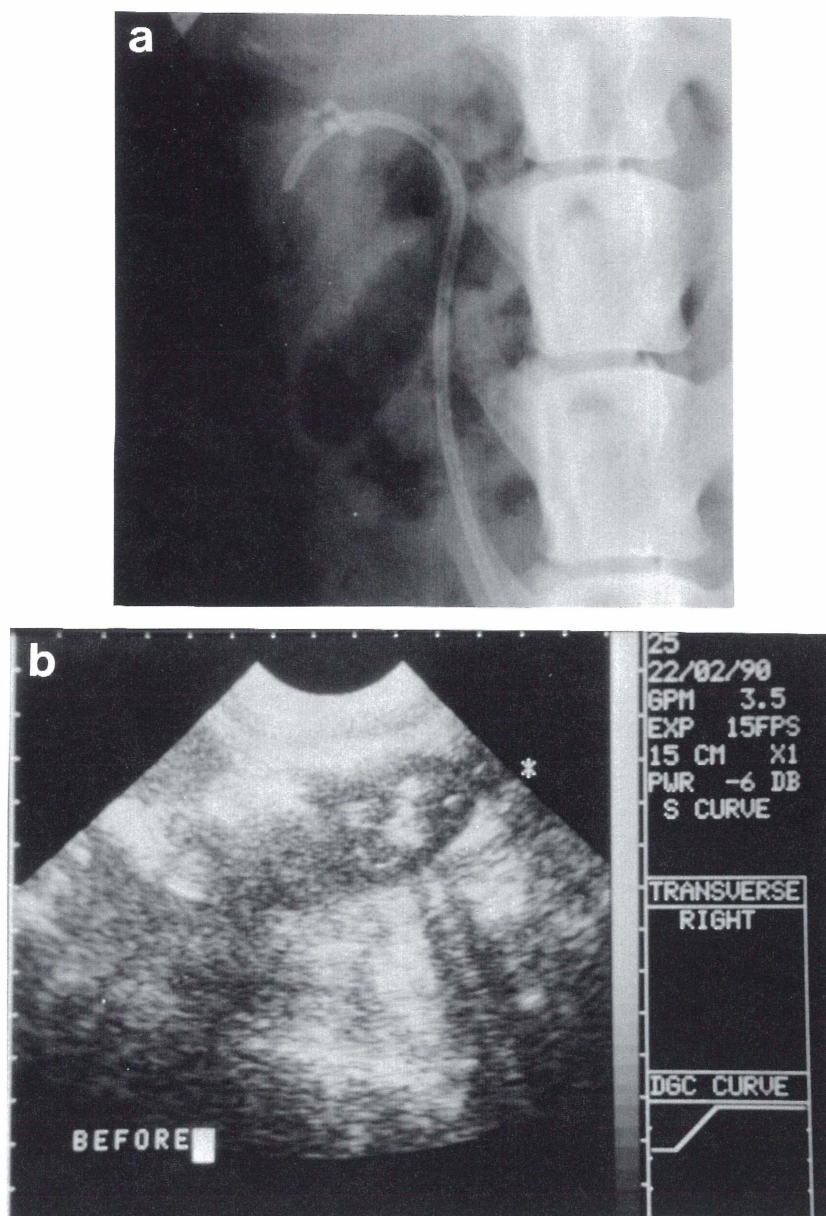


Figure 18. Comparaison entre la radiographie et l'échographie pour la détection de petits calculs.

La radiographie abdominale du côté droit (haut), et l'échographie du rein droit (bas) ont été prises avant perfusion chez le même chien. En *a* la radiographie nous permet de localiser 6 fragments de calculs (flèches). En *b* l'échographie démontre la présence de fragments de calculs (2 cônes d'ombre) sans pour autant en déterminer le nombre exact.

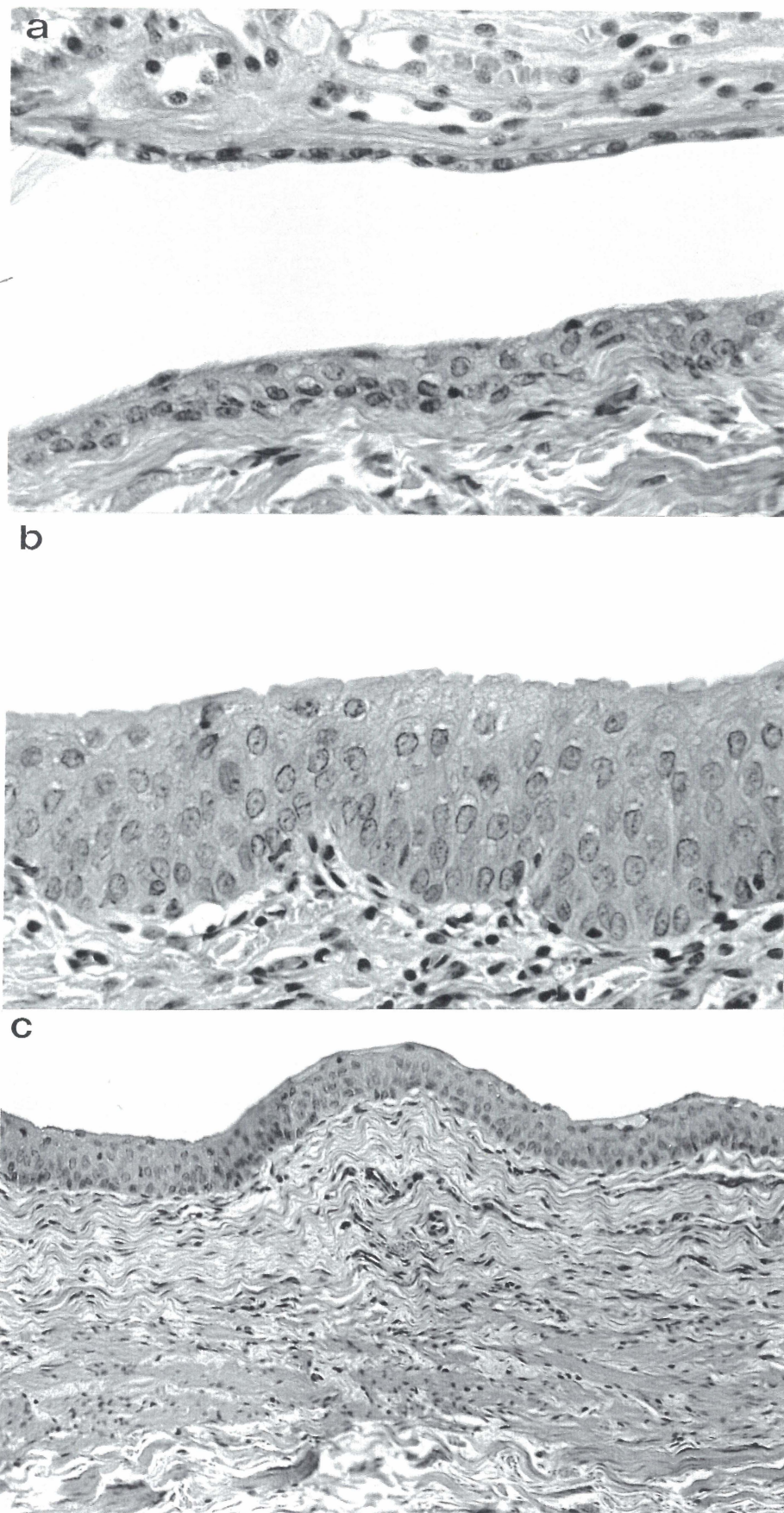


Figure 19. Cytologie de l'épithélium urinaire non traité.

a: calice rénal (400x), b: bassinnet rénal (400x) et c: uretère (160x) non traités. L'urothélium des calices, du bassinnet et de l'uretère sont normaux. On peut y distinguer les 5 à 6 couches de cellules caractéristiques.

l'épithélium (figure 20). De l'oedème fut parfois noté. Le simple passage de cathéters en clinique engendre la perte d'épithélium. En plus des cathéters, nous introduisons à répétition des fragments de calculs rénaux. Les calculs frottaient littéralement sur l'épithélium. Il ne fut pas surprenant d'observer des altérations importantes. Au bassinet, l'épithélium était normal en général sauf que l'on pouvait observer à l'occasion un oedème léger des cellules superficielles. Aucune altération ne fut notée aux calices. Les fragments de calculs et les cathéters n'atteignant pas les calices expliquent ces résultats.

L'effet mécanique a été étudié. Regardons maintenant l'effet chimique des métaux. Les contrôles utilisés pour cette partie ont été la Renacidine 10 % et la Renografin-76. La Renacidine est utilisée cliniquement pour la dissolution de calculs (struvite) par irrigation directe des cavités urinaires (RIES et MALAMENT, 1962). Rappelons que la Renografin-76 est un agent de contraste conventionnel à base d'iode. Dans les deux cas, pour l'uretère, il y eut perte d'épithélium et oedème. Ces altérations furent associées non pas à l'effet chimique mais à l'effet mécanique (passage des cathéters). Toutefois, les dommages étaient moins prononcés en absence de calculs urinaires. Au niveau des bassinets et calices, l'urothélium était normal pour la Renacidine et la Renografin-76 (figures 21 et 22).

Concernant les métaux, le Cs, Gd et Yb ont été étudiés. Les métaux ont été perfusés directement dans les cavités urinaires. Les effets toxiques devraient probablement être limités à l'épithélium urinaire. Aucun effet toxique du Cs 5 % n'a été produit sur l'épithélium du bassinet et des calices (figure 23). En présence de Gd 5 %, nous avons noté pour le bassinet et les calices, une dégradation superficielle avec

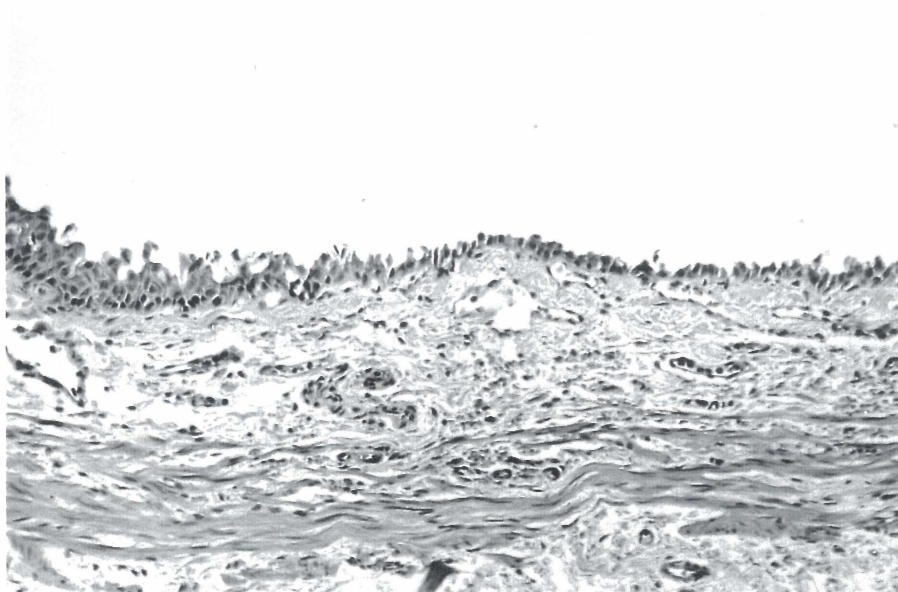


Figure 20. **Altérations mécaniques de l'urothélium.**

Les altérations mécaniques démontrées sont celles de l'uretère. Le passage des cathéters et calculs a engendré une perte importante de l'épithélium urinaire (160x). A l'extrémité gauche, la perte est superficielle alors qu'à droite elle est presque totale.

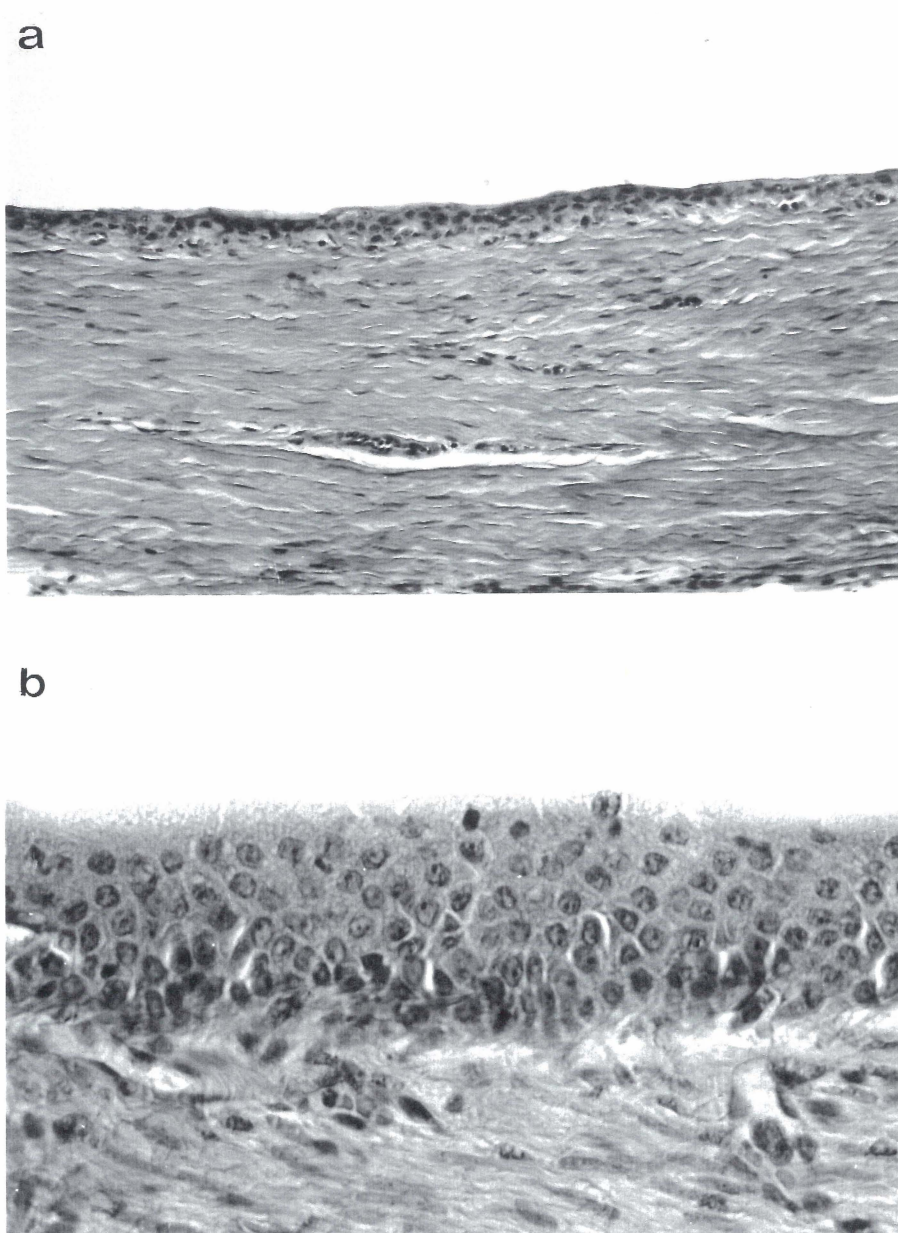


Figure 21. Cytologie de l'épithélium urinaire traité à la Renacidine.

a: calice rénal (160x) et *b*: bassinnet rénal (400x) traités à la Renacidine 10 %.
L'épithélium urinaire ne présente pas d'altérations.

Manque la figure 22 de la page 86

Figure 22 : Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Renografin-76.

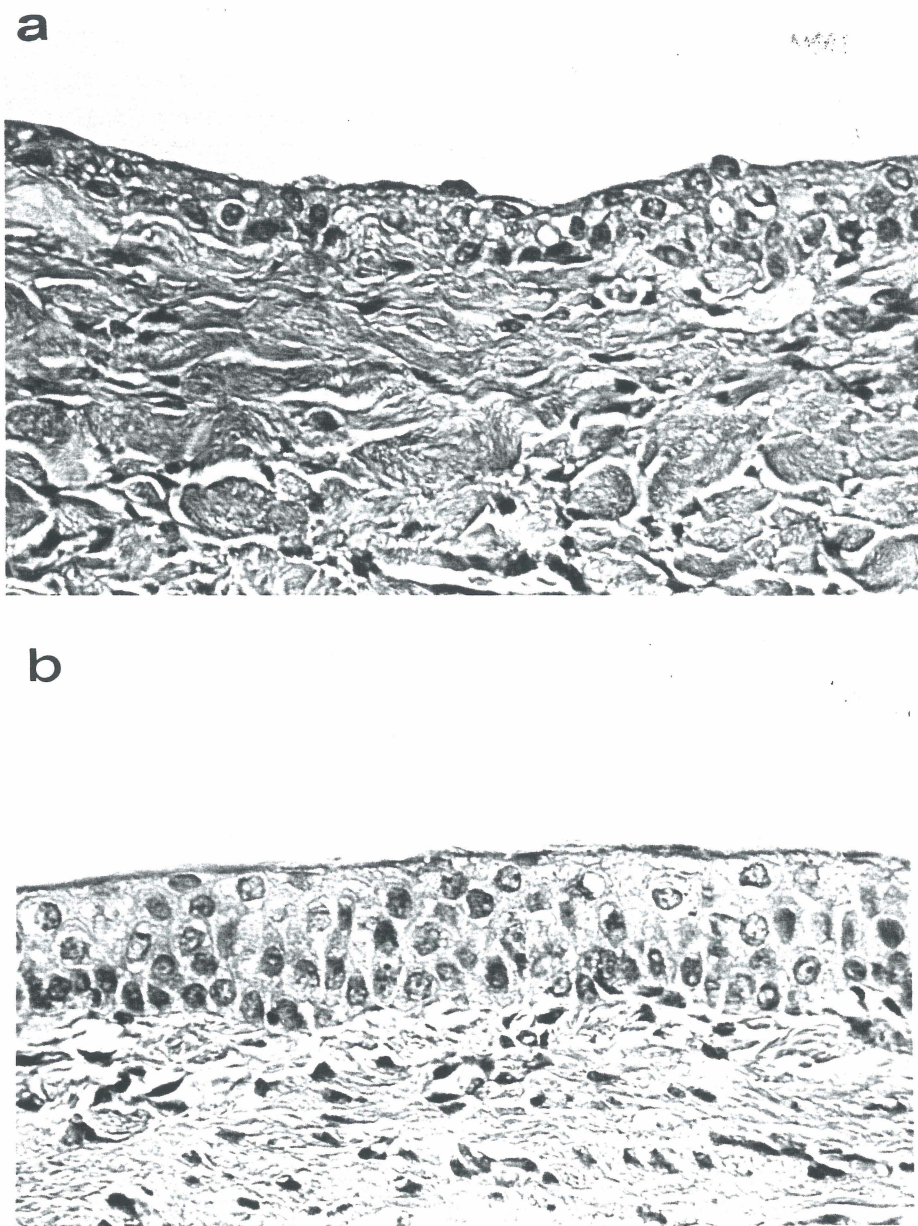


Figure 23. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Cs.

a: calice rénal (400x) et *b*: bassinnet rénal (400x) traités au Cs 5 %. L'épithélium urinaire ne présente pas d'altérations.

détachement cellulaire (2 premières couches de cellules épithéliales (figure 24). L'Yb 5 % contrairement au Gd n'a pas eu d'effet nocif sur l'épithélium du bassinet et des calices (figure 25). Pour tous les métaux, à l'uretère, on nota une dégradation de l'épithélium. Cette dégradation étant associée à une altération mécanique (passage des cathéters) et non pas à l'effet chimique des métaux.

Si on combine maintenant l'effet mécanique (cathéters et calculs) à l'effet chimique (métal 5 %) qu'obtient-on? Pour tous les métaux, on nota une perte de l'épithélium avec oedème à l'uretère résultant du passage des cathéters et calculs. Au bassinet et calices, les surfaces épithéliales furent en général normales pour le Cs 5 % et Yb 5 %. Sur quelques échantillons au bassinet on pu noter un oedème léger. Cet oedème étant probablement induit par les fragments de calculs et/ou les cathéters. Pour le Gd 5 %, il y eut détachement de l'épithélium. La dégradation de l'urothélium serait attribuée au Gd, aux calculs et aux cathéters. Ainsi, lorsqu'une perfusion était effectuée avec Cs 5 % et Yb 5 % en présence de calculs, les altérations notées étaient plutôt celles produites par les calculs et les cathéters. Tandis que pour le Gd, il y avait définitivement un effet du métal sur l'épithélium en plus des dommages mécaniques.

Les concentrations des métaux utilisés ici étaient identiques à celles employées lors des perfusions pour rehausser la radio-opacité des calculs. Nous avons établi que le temps optimal de perfusion pour la radio-opacification était de 30 minutes pour le Cs 5% et de 1 heure pour le Gd 5 %. Le temps de perfusion choisi a été de 2 heures. Cela afin de mettre une plus grande quantité de métal en contact avec l'urothélium et de prolonger ce contact. A une concentration de 5 %, une perfusion d'une durée de 2 heures

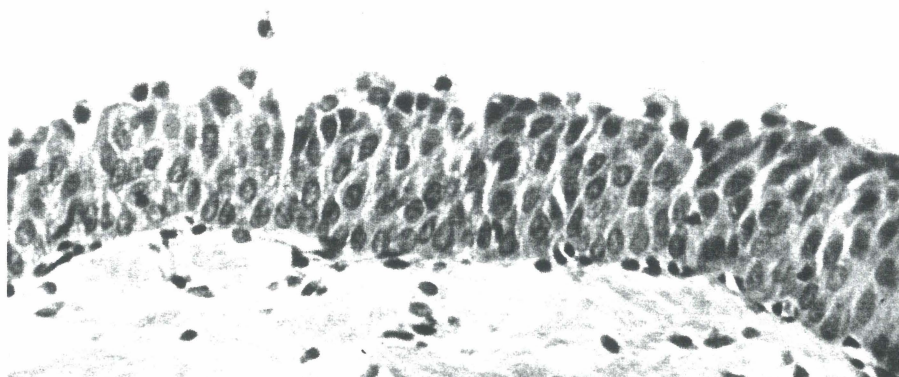
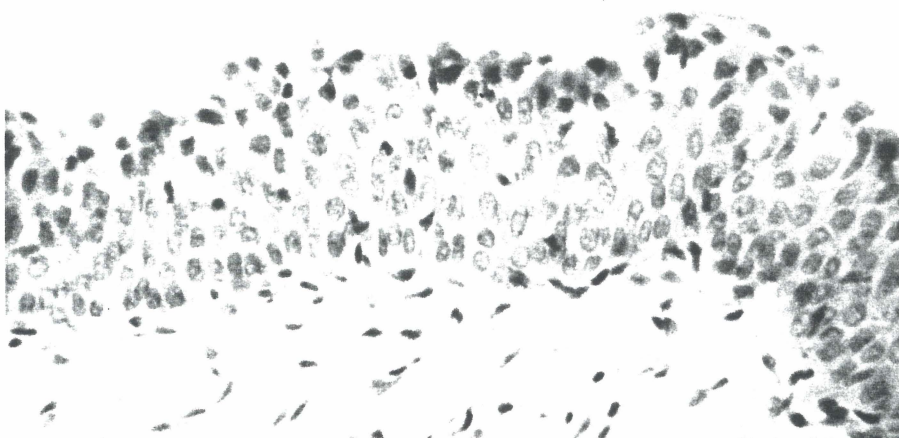
a**b**

Figure 24. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Gd.

a: calice rénal (400x) et b: bassinnet rénal (400x) traités au Gd 5 %. Pour les calices et le bassinnet , il y a dégradation superficielle avec détachement cellulaire (2 premières couches de cellules).

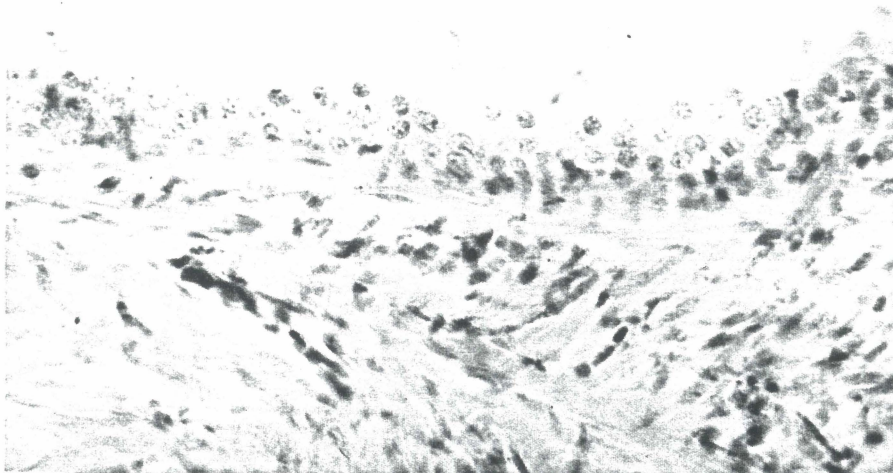
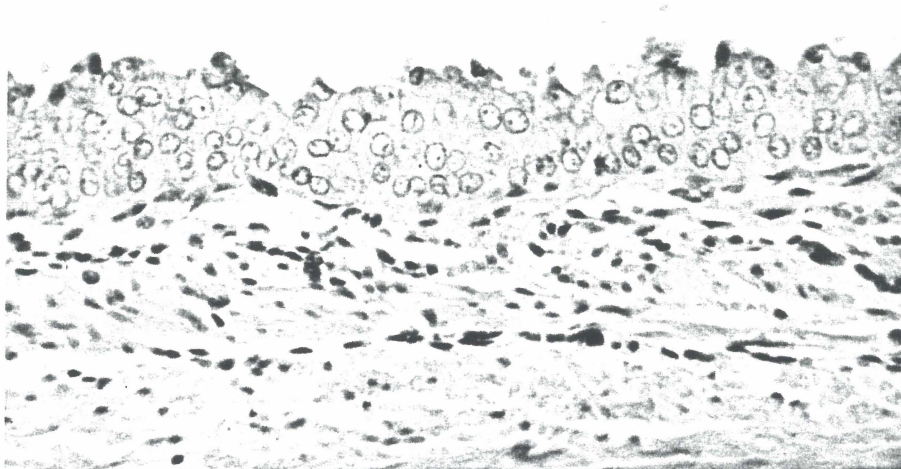
a**b**

Figure 25. Cytologie de l'épithélium urinaire traité au Yb.

a: calice rénal (400x) et **b:** bassinnet rénal traités au Yb 5 %. L'épithélium urinaire ne présente pas d'altérations.

(à un rythme de 0.94 ml/min) chez un animal de 25 Kg équivalait à donner 240 mg/Kg du composé au total. Le LD50 du chlorure de césium administré par voie intrapéritonéale est de 1684 mg/Kg (voir tableau 7). Donc la dose de chlorure de césium que nous avons employé est très inférieure à cette valeur. De plus, à l'urothélium on ne dénotait aucun effet toxique du césium à cette concentration. Pour l'ytterbium nitrate 5 %, nous étions à la limite du LD50 intrapéritonéal (voir tableau 7). Et l'ytterbium 5 % comme le Cs 5 % n'a pas endommagé l'urothélium. Il est à noter que les valeurs pour le nitrate n'étaient pas disponibles, d'où la comparaison avec le chlorure. Le gadolinium nitrate se situait à la limite du LD50 intrapéritonéal (voir tableau 7). Si on comparait avec le LD50 intraveineux du chlorure, la dose employée était supérieure au LD50 (79.1 mg/Kg). Le Gd a une toxicité modérée si administré par voie systémique (voir tableau 7). L'utilisation seule au niveau du tractus urinaire devrait en principe prévenir une distribution systémique limitant les effets toxiques à l'urothélium (voir études d'absorption, distribution du ^{153}Gd). Contrairement aux deux autres métaux, le Gd 5 % a endommagé l'épithélium urinaire. Ces altérations sont toutefois considérées mineures. Le Gd 5 % rehausse la radio-opacité des calculs des voies urinaires après une heure de perfusion. Avec une heure de perfusion, on réduit la dose de 240 mg/Kg à 120 mg/Kg. Peut-être qu'il n'y aurait pas d'effet toxique à cette dose. Et si il y a un effet toxique, quelles en sont les conséquences? Combien de temps lorsque altéré l'épithélium urinaire prend-t-il à se régénérer? Bref, des études toxicologiques supplémentaires sur l'urothélium s'avèrent nécessaires. Elles seront bientôt entreprises dans mon laboratoire d'accueil. Enfin, de récentes études menées dans ce même laboratoire ont mis en évidence une régénération de l'épithélium une semaine après traitement au Gd 5 %.

Tableau 7. Toxicité aigue de quelques lanthanides injectés par voie intrapéritonéale ou intraveineuse.

Métal	Voie d'administration	Espèce	^b LD50 mg/kg	^a Référence
CsCl	IP ^c	souris	1684	1
GdCl ₃	IP	souris	379,550	2,3
Gd(NO ₃) ₃	IP	souris	300	4
GdCl ₃	IV ^d	rat	79.1	5
		souris	100-200	6
YbCl ₃	IP	souris	300,285 395,250	3,7 8,4
		rat	255	4

^aRéférences: 1, Pinsky et coll., 1981; 2, Haley et coll., 1961; 3, Grace et coll., 1962; 4, Bruce et coll., 1963; 5, Weinmann et coll., 1984; 6, Caillé et coll., 1983; 7, Venugopal et Luckey, 1978; 8, Haley et coll., 1963.

^bDose toxique minimale relative.

^cIntrapéritonéal

^dIntraveineux

Etudes d'absorption, de distribution avec ^{137}Cs et ^{153}Gd

Dans cette partie, nous avons voulu voir si il y avait absorption par l'urothélium de Cs ou de Gd lorsqu'une perfusion est effectuée avec ces métaux. Et si il y a absorption, quelle est la proportion et la distribution du Cs ou Gd dans l'organisme. Pour réaliser ces études, 2 isotopes étaient disponibles: ^{137}Cs et ^{153}Gd . Le ^{137}Cs a une demi-vie physique de 30.17 ans, émet 1.2 MeV β (5 %), 0.514 MeV β (95 %) et 0.66 MeV γ . La demi-vie physique du ^{153}Gd est de 241.6 jours. Il émet 41-47 keV rayons X (122 %) et 97-103 keV γ (51 %). Comme ces isotopes sont peu utilisés, il a fallu établir un programme de comptage efficace sur compteur gamma. Pour ces radio-isotopes, nous avons préféré le compteur gamma au compteur bêta: l'énergie des rayons gamma est élevée, les échantillons à analyser sont biologiques (sang, urine). Avec un aliquot sanguin, du quenching est observé sur compteur bêta. Sur compteur gamma, il n'y en a pas. La fenêtre de lecture choisie a été de 10-999 MeV. Cette fenêtre permet la lecture du ^{137}Cs et ^{153}Gd . L'intervalle de 10-999 MeV peut sembler large, mais le ^{137}Cs et ^{153}Gd sont à haute énergie et les interférences induites par d'autre isotopes sont peu probables. L'efficacité de comptage obtenue avec ^{137}Cs est de 23 % et pour le ^{153}Gd elle est de 43 %. Les courbes standards pour les deux isotopes sont linéaires sur la gamme de comptes lue fréquemment (comptes >5000 cpm) (figures 26 et 27).

Suite à l'établissement d'un programme de comptage efficace et des courbes standards, nous avons fait les perfusions sans obstruction rénale et avec obstruction rénale. Les figures 28 et 29 présentent les résultats des perfusions sans obstruction et avec obstruction rénale pour le ^{137}Cs . Sans obstruction rénale, le rein perfusé au ^{137}Cs

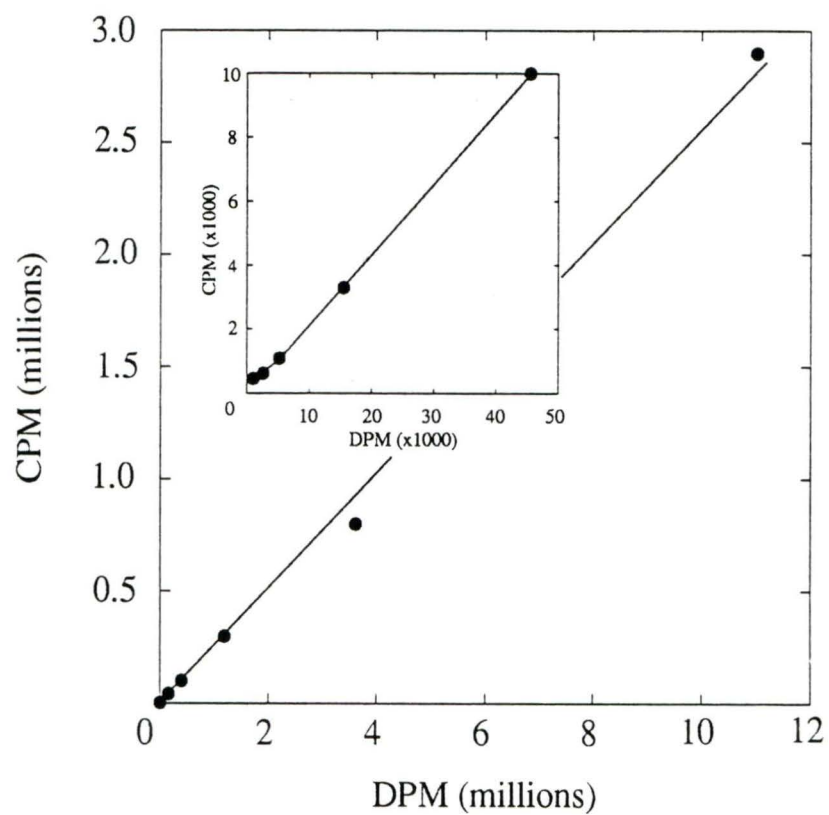


Figure 26. Courbe standard du ^{137}Cs .

En ordonnée se retrouve la radioactivité enregistrée (cpm) et en abscisse la radioactivité émise (dpm). La relation est linéaire. L'efficacité de comptage, déterminée par la pente de la droite, est de 23%.

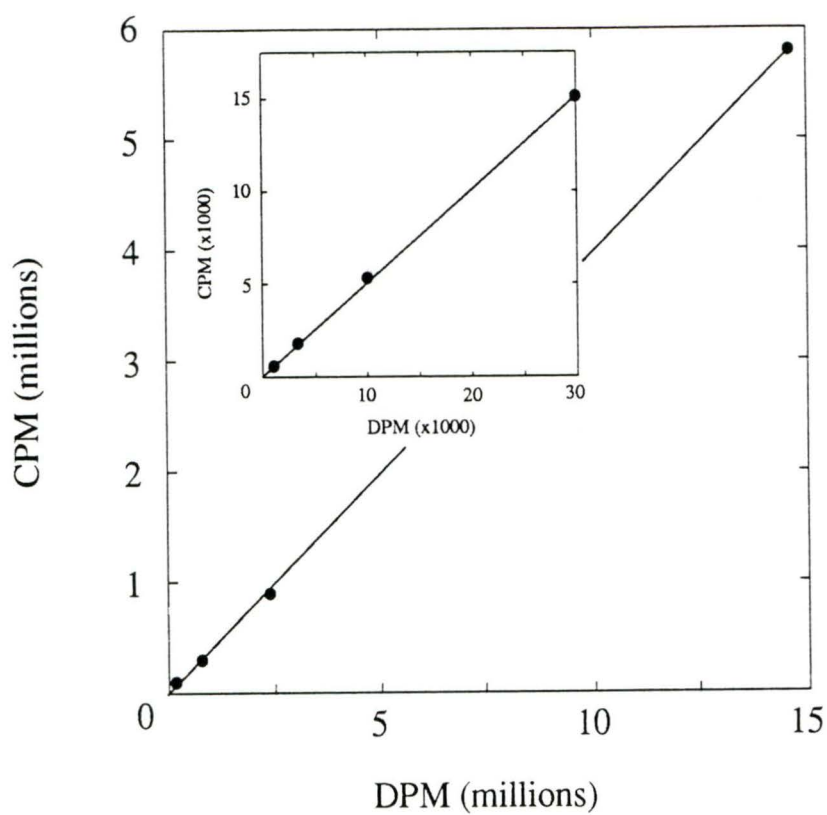


Figure 27. Courbe standard du ^{153}Gd .

En ordonnée se retrouve la radioactivité enregistrée (cpm) et en abscisse la radioactivité émise (dpm). La relation est linéaire. L'efficacité de comptage, déterminée par la pente de la droite, est de 43%.

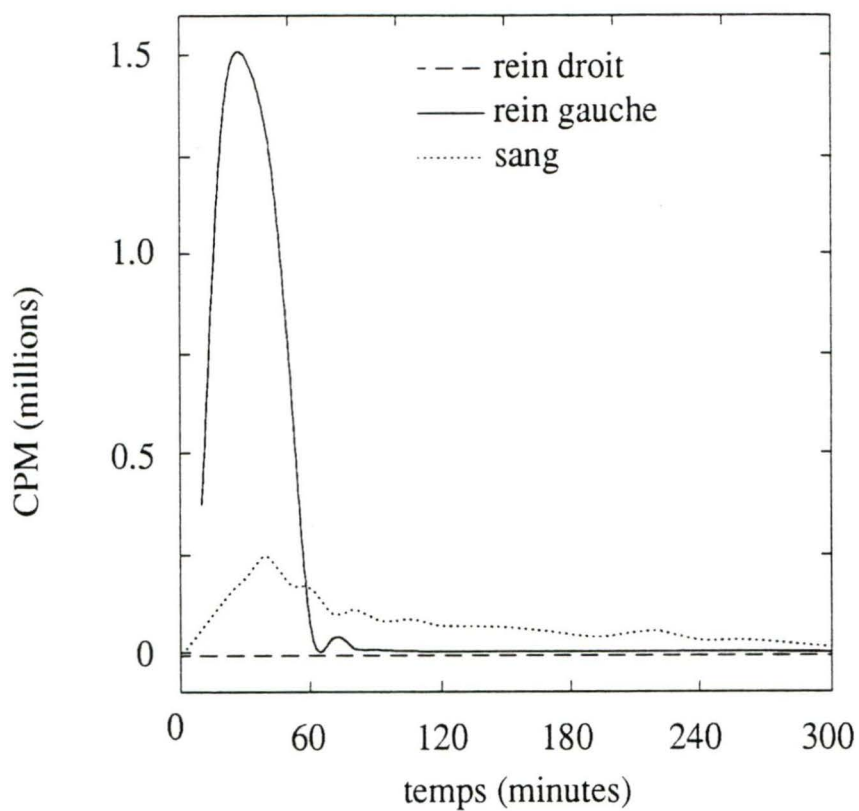


Figure 28. **Distribution du ^{137}Cs après perfusion du rein gauche, sans obstruction rénale.**

Le rein gauche fut perfusé pendant 30 min. avec une solution de Cs 5% contenant 100 μCi de ^{137}Cs . Presque tout le Cs a été excrété par le rein gauche (urine). Moins de 1% du Cs a été absorbé dans le sang. Une clairance plasmatique pratiquement nulle par le rein droit témoigne du peu d'absorption par l'urothélium.

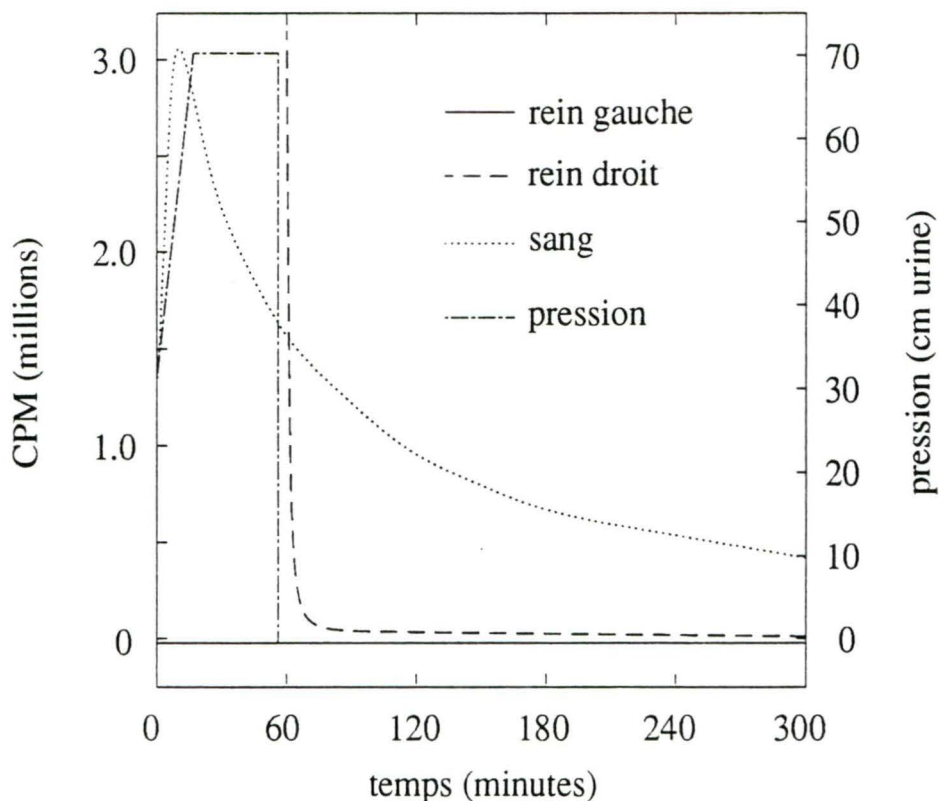


Figure 29. **Distribution du ^{137}Cs après injection dans le rein droit, avec obstruction rénale.**

Le rein droit fut injecté avec 500 μl d'une solution de Cs 5 % contenant 100 μCi de ^{137}Cs . L'obstruction rénale fut pratiquée immédiatement après l'injection. La pression rénale fut maintenue à 70 cm d'urine pour une durée de 30 min. Une proportion importante du ^{137}Cs a été excrétée par le rein droit. 7 % du ^{137}Cs fut absorbé dans le sang pour être rapidement redistribué avant que la pression n'atteigne 70 cm. d'urine. Il y eut clairance par le rein gauche (urine \approx 5000 CPM/ml) bien qu'elle ne soit pas perceptible sur le graphique. L'excrétion urinaire est exprimée en cpm/ml d'urine alors que la clairance plasmatique est établie par extrapolation suivant le volume sanguin de l'animal.

a éliminé 94 % (61 de 66 millions de cpm détectables) de la radioactivité totale. De plus, la majeure partie de la radioactivité est éliminée dans l'urine dans les premières 60 minutes. 0.3 % (0.21 sur 66 millions de cpm) du ^{137}Cs fut absorbé rapidement dans le sang pour être ensuite redistribué. Il y eut clairance par le rein non perfusé. La clairance déterminée dans l'urine totale fut de 0.2 % (0.11 sur 66 millions de cpm). A la fin de l'expérience, les reins furent prélevés puis dissouts dans le but de déterminer la radioactivité dans ces organes. Comme l'absorption était peu importante et que la majeure partie de la radioactivité a été retrouvée dans l'urine, seuls les reins furent dissouts. Pour le rein perfusé au ^{137}Cs , nous avons récupéré 0.4 % de la radioactivité. Pour l'autre rein, la radioactivité résiduelle était de 0.2 % (voir tableau 8). La radioactivité présente dans les reins ne peut être vraiment plus élevée, puisque plus de 94 % du ^{137}Cs a été éliminé dans l'urine pendant l'expérience. Avec l'obstruction rénale, le rein injecté au ^{137}Cs a éliminé seulement 32 % de la radioactivité (20 sur 66 millions de cpm). L'élimination la plus importante est survenue immédiatement après la cessation de l'obstruction. 7 % du césium fut absorbé dans le sang pour être redistribué avant que la pression n'atteigne 70 cm d'urine. La clairance par le rein injecté fut de 2 % (1.4 millions de cpm). Les organes présentant une radioactivité importante (compteur Geiger) furent prélevés pour être dissouts au KOH. Parmi ceux-ci, on notait le foie, la rate et les reins (voir tableau 8). Pour le rein injecté au ^{137}Cs et le rein non injecté, nous avons récupéré respectivement 3.0 et 1.5 % de la radioactivité. La quantité de ^{137}Cs retrouvé dans les reins est plus élevée en présence d'obstruction qu'elle ne l'est en absence d'obstruction. Toutefois puisque peu de radioactivité a été retrouvé dans l'urine totale (32 % avec obstruction versus 94 % sans obstruction), la quantité de ^{137}Cs aurait pu être plus élevée. Comme l'absorption est importante (7 %), ceci pourrait expliquer le peu de radioactivité

Tableau 8. Dissolution des organes au ^{137}Cs .

Expérience	Organe	CPM récupérés	% récupéré	n
Sans obst.	rein perfusé	244 533	0.4	3
	rein non perfusé	102 750	0.2	3
Avec obst.	rein injecté	1 888 759	3.0	3
	rein non injecté	973 711	1.5	3
	foie	4 092 028	6.2	3
	rate	271 442	0.4	3

Résumé des dissolutions de certains organes suite aux perfusions au ^{137}Cs . Sont indiquées la quantité totale de radioactivité récupérée (CPM récupérés) et la fraction (% récupéré) que représente cette quantité par rapport à la dose initiale de radioactivité utilisée.

aux reins. D'ailleurs, le foie a présenté 6.2 % de ^{137}Cs , ce qui est supérieur aux reins, et la rate 0.4 %. Comme le césium a une affinité particulière pour les tissus mous (MESSIHA, 1984), ceci pourrait expliquer la distribution importante du ^{137}Cs au foie. Toutefois le site de distribution préféré du césium est le muscle squelettique (MESSIHA, 1984). La distribution du ^{134}Cs chez le rat après une administration péritonéale a été étudiée par RICHMOND (1980). Il a démontré que 64.32 % du ^{134}Cs était localisé au muscle, 9.74 % à la peau, 9.36 % au foie, et 0.35 % à la rate. Nos résultats sont similaires pour le foie et la rate (6.8 % et 0.4 % respectivement). Nous aurions probablement détecté une quantité considérable de ^{137}Cs et peut-être pu récupérer une bonne partie de la radioactivité manquante (environ 45 %). Malheureusement, étant donné l'importance de la masse musculaire, le contenu en ^{137}Cs n'a pu être évalué par dissolution. La scintigraphie n'a pas été employée pour évaluer la radioactivité due à des restrictions techniques (voir scintigraphie au ^{153}Gd)

Qu'il y ait ou non obstruction, le césium est absorbé. Cependant l'absorption n'est significative que lorsqu'il y a obstruction rénale. En absence d'obstruction rénale, le Cs suit les mouvements du potassium (LEGGETT, 1986) étant donné la similitude des deux ions en solution. Le Cs compétitionne avec le K^+ pour le transport à travers les membranes cellulaires. Puisque la réabsorption du K^+ a lieu au tubule collecteur, l'absorption du Cs perfusé par voie rétrograde pourrait s'effectuer via les transporteurs de K^+ . Avec obstruction rénale, l'absorption est augmentée (7 %). Dans ce cas, l'absorption du Cs pourrait être facilitée par un gradient de pression exercé sur le tubule collecteur lors de la perfusion.

Chez les patients présentant des lithiases, il n'est pas rare d'observer de l'obstruction rénale. Ainsi lors d'une tentative de radio-opacification des calculs avec des solutions de césium, il serait important de surveiller la pression de perfusion afin d'éviter toute absorption importante. Mais si il y avait absorption significative de Cs, que pourrait-on faire pour favoriser son élimination? On sait que l'aldostérone a un rôle important dans la balance du K⁺. Par exemple, avec une diète riche en K⁺, il y a augmentation temporaire de la kaliémie. L'hyperkaliémie entraîne une élévation de la sécrétion d'aldostérone. L'aldostérone augmente l'excrétion du K⁺. De plus l'aldostérone augmente la perméabilité des cellules au Cs (LEGGETT, 1986). Donc en ayant une diète riche en K⁺, l'excrétion du Cs pourrait être augmentée (McNEILL et coll., 1962, RICHMOND et FURCHNER, 1961).

Les figures 30 et 31 résument les résultats obtenus avec le ¹⁵³Gd. Sans obstruction rénale (voir figure 30), le ¹⁵³Gd est presque totalement éliminé par le rein initialement perfusé. 98 % (98 sur 100 millions de cpm détectables) de la radioactivité fut récupérée dans l'urine produite par ce rein. L'élimination de radioactivité la plus importante survint dans les premières 60 minutes. Aucune absorption et redistribution plasmatique ne fut notée. Ceci est corroboré par la clairance nulle du rein non perfusé. Même si 98 % de la radioactivité fut récupérée, nous avons procédé à la dissolution des deux reins. Nous avons trouvé 0.6 % de ¹⁵³Gd dans le rein perfusé et aucune radioactivité dans le rein non perfusé (voir tableau 9). Avec obstruction (voir figure 31), le rein injecté a éliminé 34 % (34 sur 100 millions de cpm) de la radioactivité. Il n'y eut aucune absorption et redistribution plasmatique et clairance par l'autre rein. Comme il n'y a pas d'absorption, le 66 % de radioactivité résiduelle devrait se situer dans le rein injecté

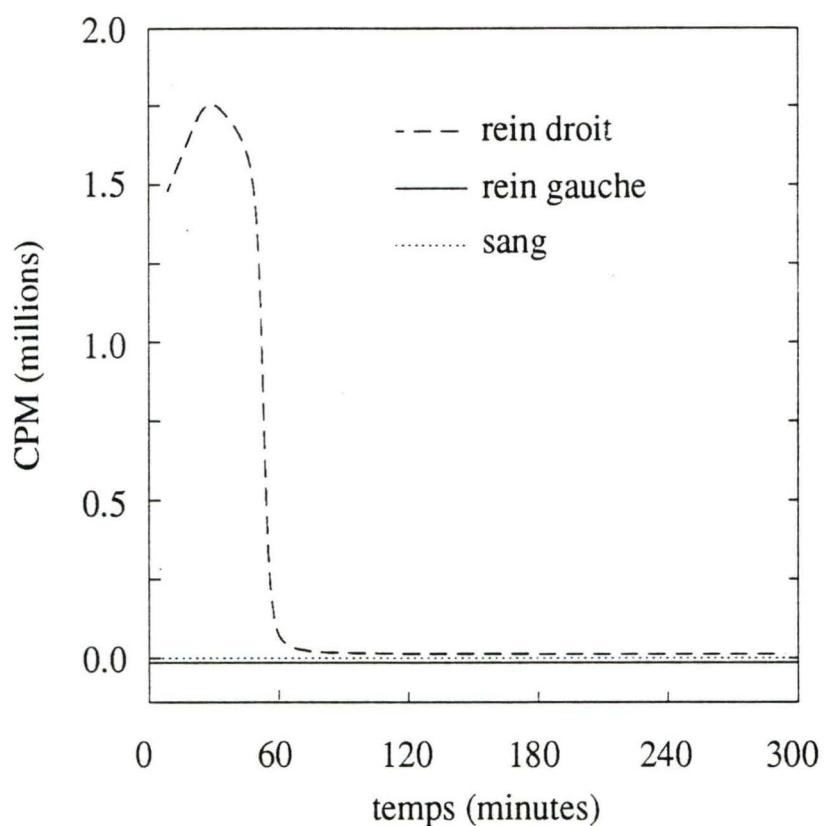


Figure 30. Distribution du ^{153}Gd après perfusion du rein droit, sans obstruction rénale.

Le rein droit fut perfusé pendant 30 min. avec une solution de Gd 5 % contenant $100\ \mu\text{Ci}$ de ^{153}Gd . Le ^{153}Gd est à toute fin pratique éliminé par le rein droit. Aucune absorption et redistribution plasmatique ne fut décelée. Ceci est corroboré par une clairance nulle du rein gauche. L'excrétion urinaire est exprimée en cpm/ml d'urine alors que la clairance plasmatique est établie par extrapolation suivant le volume sanguin de l'animal.

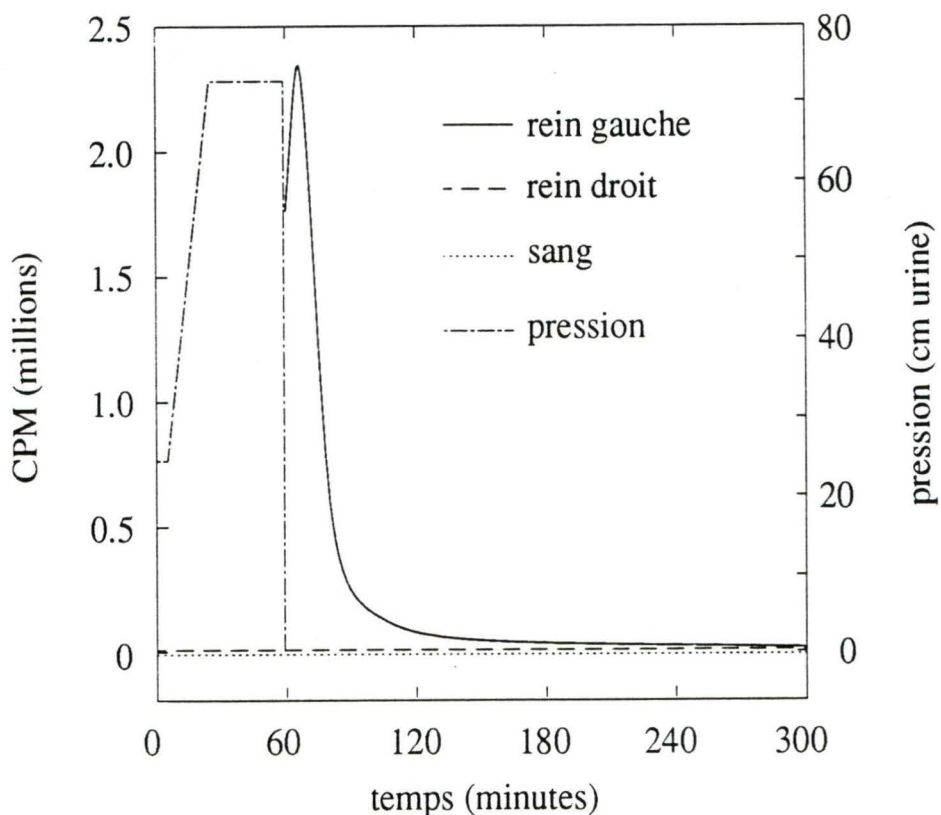


Figure 31. **Distribution du ^{153}Gd après injection dans le rein gauche, avec obstruction rénale.**

Le rein gauche fut injecté avec 500 μl d'une solution de Gd 5 % contenant 100 μCi de ^{153}Gd . L'obstruction rénale fut pratiquée immédiatement après l'injection. La pression rénale fut maintenue à 70 cm. d'urine pour une durée de 30 min. Une proportion importante du ^{153}Gd fut excrété par le rein gauche. Aucune absorption et redistribution plasmatique ne fut décelée. Ceci est corroboré par une clairance nulle du rein droit. L'excrétion urinaire est exprimée en cpm/ml d'urine alors que la clairance plasmatique est établie par extrapolation suivant le volume sanguin de l'animal.

Tableau 9. Dissolution des organes au ^{153}Gd .

Expérience	Organe	CPM récupéré	% récupéré	n
Sans obst.	rein perfusé	550 709	0.6	3
	rein non perfusé	0	0	3
Avec obst.	rein injecté	46×10^6	46	3
	rein non injecté	0	0	3

Résumé des dissolutions de certains organes suite aux perfusions au ^{153}Gd . Sont indiquées la quantité totale de radioactivité récupérée (CPM récupérés) et la fraction (% récupéré) que représente cette quantité par rapport à la dose initiale de radioactivité utilisée.

au ^{153}Gd . Lorsque la dissolution des reins est faite nous retrouvons 46 % du ^{153}Gd dans le rein injecté. Aucune radioactivité dans le rein non injecté au ^{153}Gd ne fut trouvée (voir tableau 9). Contrairement au césium, le gadolinium n'est pas absorbé.

Scintigraphie au ^{153}Gd

On a vu que le gadolinium n'est pas absorbé lorsque perfusé directement dans les cavités urinaires. Une scintigraphie a quand même été effectuée afin d'établir la distribution du gadolinium-153 après injection intraveineuse dans l'organisme. Des images à 5 min., 35 min., 1.5, 3, 4, 12, 24 hres, 6 jrs et 20 semaines post-injection ont été prises. La distribution du ^{153}Gd à ces temps est représentée aux figures 32a à 32h. L'échelle constituée de 8 couleurs nous permet d'apprécier la répartition du ^{153}Gd dans l'organisme. L'échelle est construite de cette façon:

Noir < Rose < Bleu foncé < Bleu pâle < Vert < Jaune < Rouge < Blanc

0 1 2 3 4 5 6 7

Les chiffres en-dessous des couleurs sont les intensités relatives par rapport au contenu en ^{153}Gd . Le blanc représente l'endroit où on dénote le plus de radioactivité. Le noir, aucune radioactivité décelée. Le blanc est 7 fois plus intense (plus de ^{153}Gd) que le rose, le rouge 6 fois plus que le rose, etc..

A 5 min. post-injection, (figure 32a), le ^{153}Gd fut retrouvé principalement au niveau

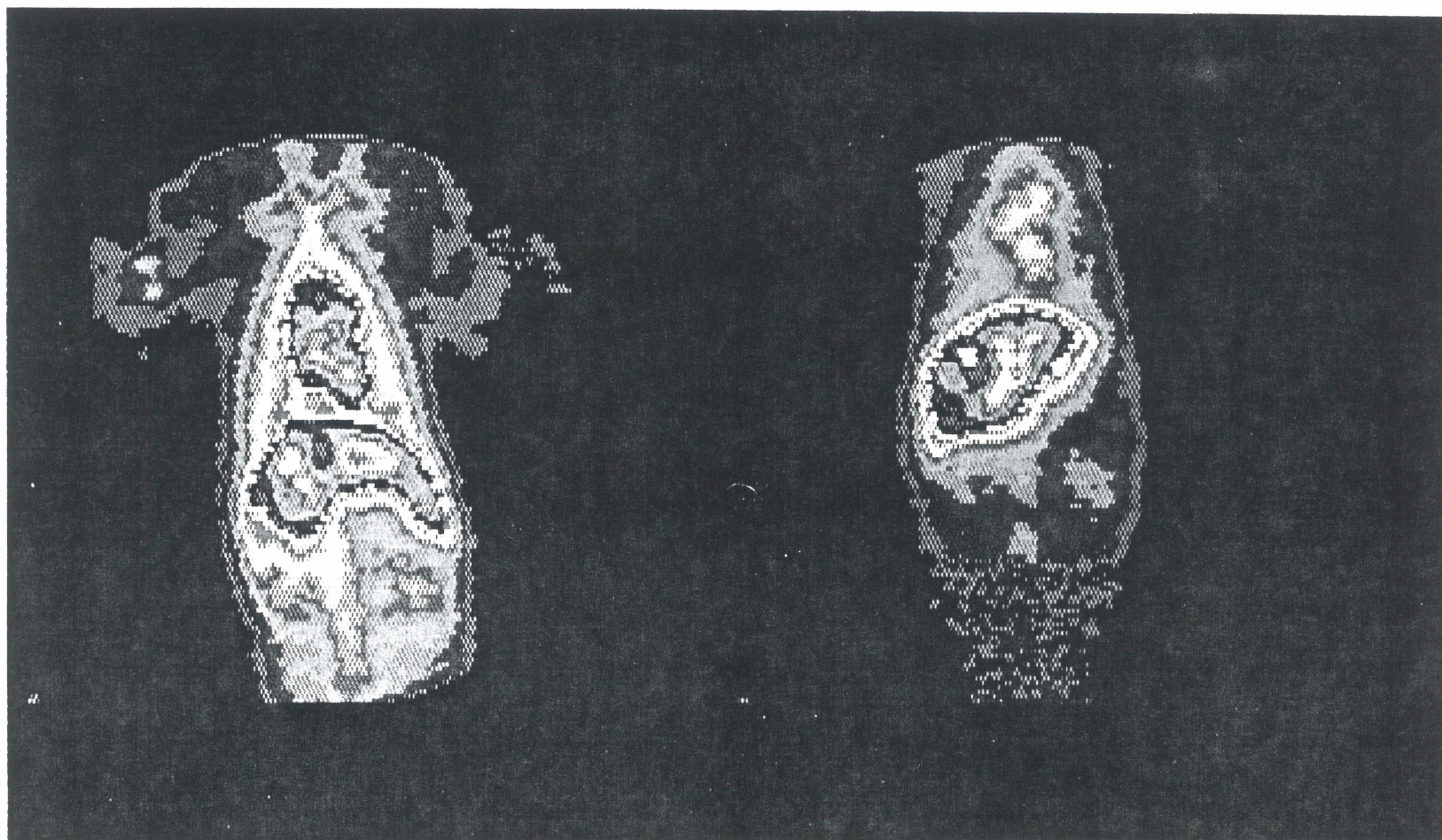


Figure 32a. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 5 min. (gauche) et 35 min. post-injection (droite). Vue antérieure du thorax et de l'abdomen. A 5 min., le ^{153}Gd est situé principalement au cœur, aux vaisseaux sanguins, au foie et aux reins. A 35 min., il y a diminution de la radioactivité au cœur, aux vaisseaux sanguins et aux reins. Le foie est inchangé.

du coeur et des vaisseaux sanguins et au foie. Les reins présentèrent également une radioactivité importante. A 35 min. (figure 32a), le ^{153}Gd quitta progressivement le coeur et les vaisseaux sanguins. La radioactivité aux reins fut également diminuée. Par contre, il y eut peu de changement au foie. Après 1 hre, 50 min. (figure 32b), la radioactivité chuta encore pour le coeur et les vaisseaux sanguins et les reins. Aucun changement pour le foie. Suivant 3 heures post-injection (figure 32b), la radioactivité était minimisée pour le coeur, les vaisseaux sanguins et les reins. Toujours aucun changement au foie. A 4 heures (figure 32c), les seuls changements observés furent une déposition importante de ^{153}Gd aux articulations des épaules et aux vertèbres. On nota également de la radioactivité au niveau des os du crâne. A 12 heures et 24 heures (figures 32d et 32e), les images obtenues furent similaires à celle de 4 heures (figure 32c). Après 6 jours (figure 32f), on pu observer une élévation du contenu en ^{153}Gd au niveau des vertèbres (présence de rouge et blanc) et des os du crâne (présence du jaune). Il y eut peu de changement aux articulations et au foie. 20 semaines suivant l'injection de ^{153}Gd (figures 32g et 32h), on enregistra une baisse de radioactivité aux vertèbres (disparition du blanc, rouge et jaune), une légère baisse aux articulations (pas de blanc, moins de rouge) et au crâne (absence de jaune). Le contenu en ^{153}Gd du foie fut également diminué bien que l'image présentée ne puisse démontrer cette différence.

A la figure 33, nous avons un résumé global de la biodistribution du ^{153}Gd . Pour le foie, une accumulation de ^{153}Gd fut notée immédiatement après l'injection. Il y eut dans les quelques minutes suivantes élévation du contenu en ^{153}Gd puis maintien à un niveau constant jusqu'à 6 jours post-injection. Ce n'est qu'à 20 semaines que l'on observa une diminution de la radioactivité. L'élimination du ^{153}Gd au foie se faisait lentement. A 5 min.

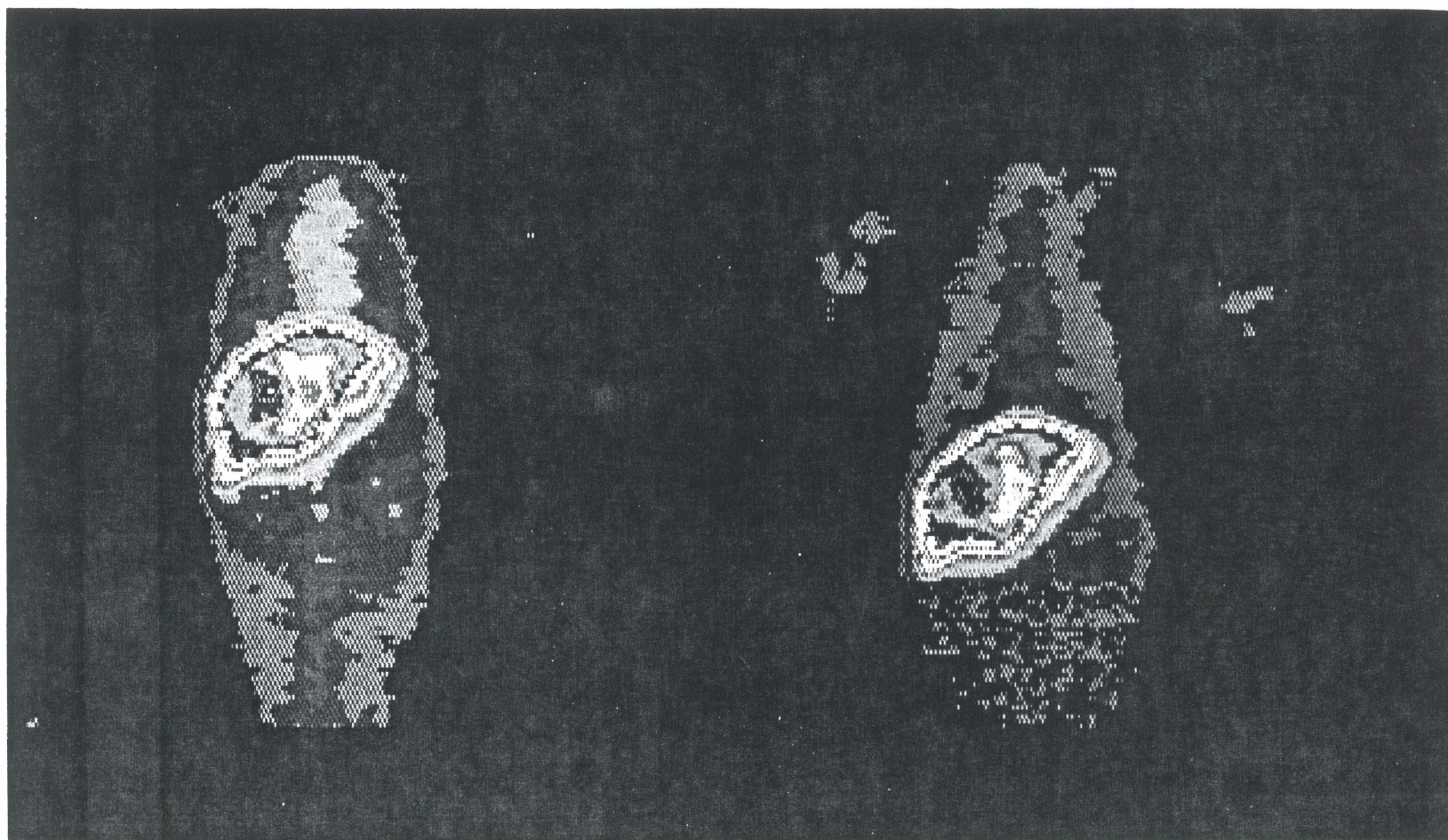


Figure 32b. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 1 heure, 50 min. (gauche) et 3 heures post-injection (droite). Vue antérieure du thorax et de l'abdomen. A 1 heure, 50 min., il y a encore diminution de la radioactivité au cœur, aux vaisseaux sanguins et aux reins. Aucun changement au foie.

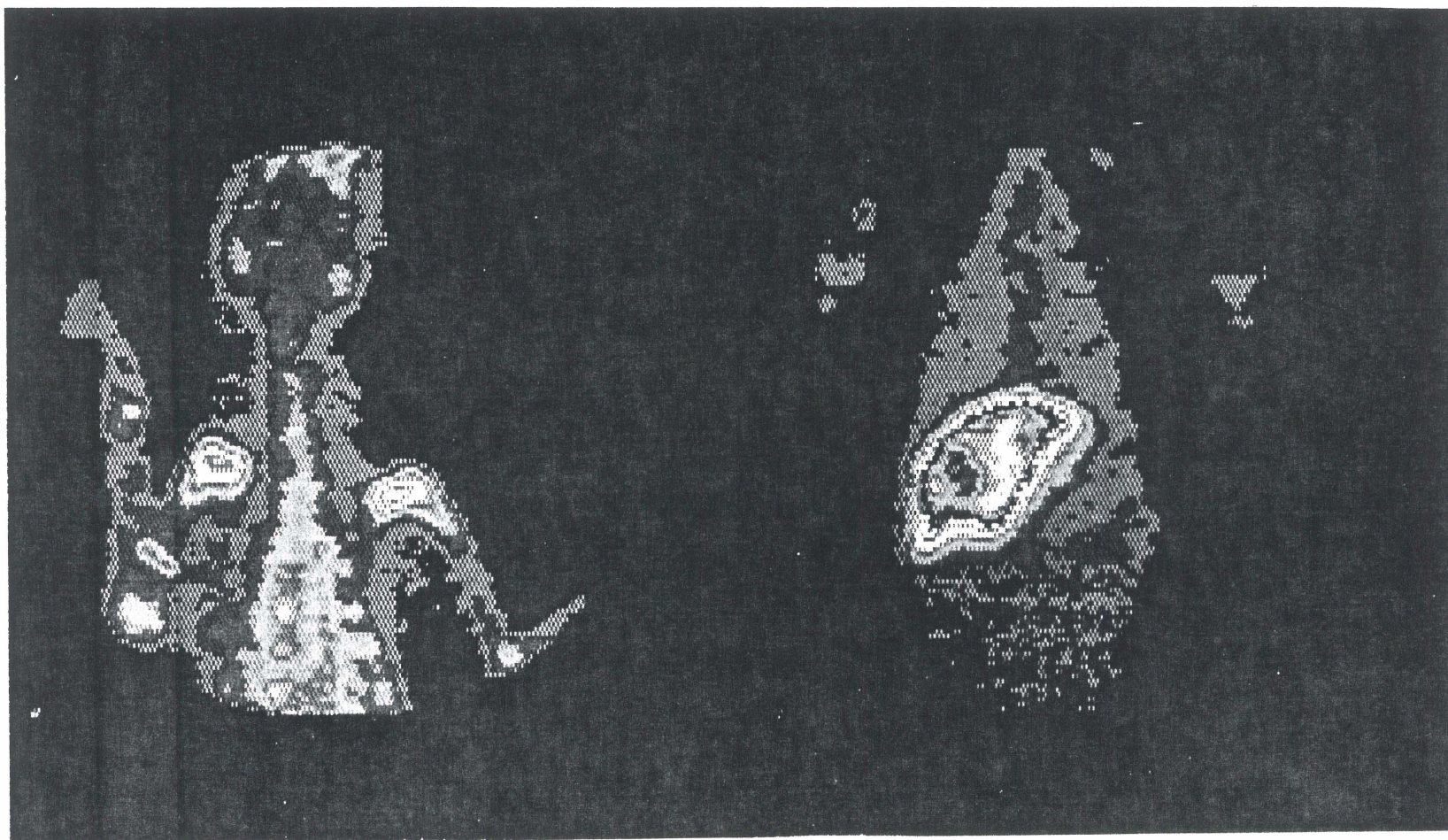


Figure 32c. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 4 heures post-injection. Vue antérieure de la tête et du thorax (gauche). Vue antérieure du thorax et de l'abdomen (droite). Une déposition importante de ^{153}Gd est notée aux articulations des épaules, aux vertèbres et aux os du crâne. Aucun changement au foie.

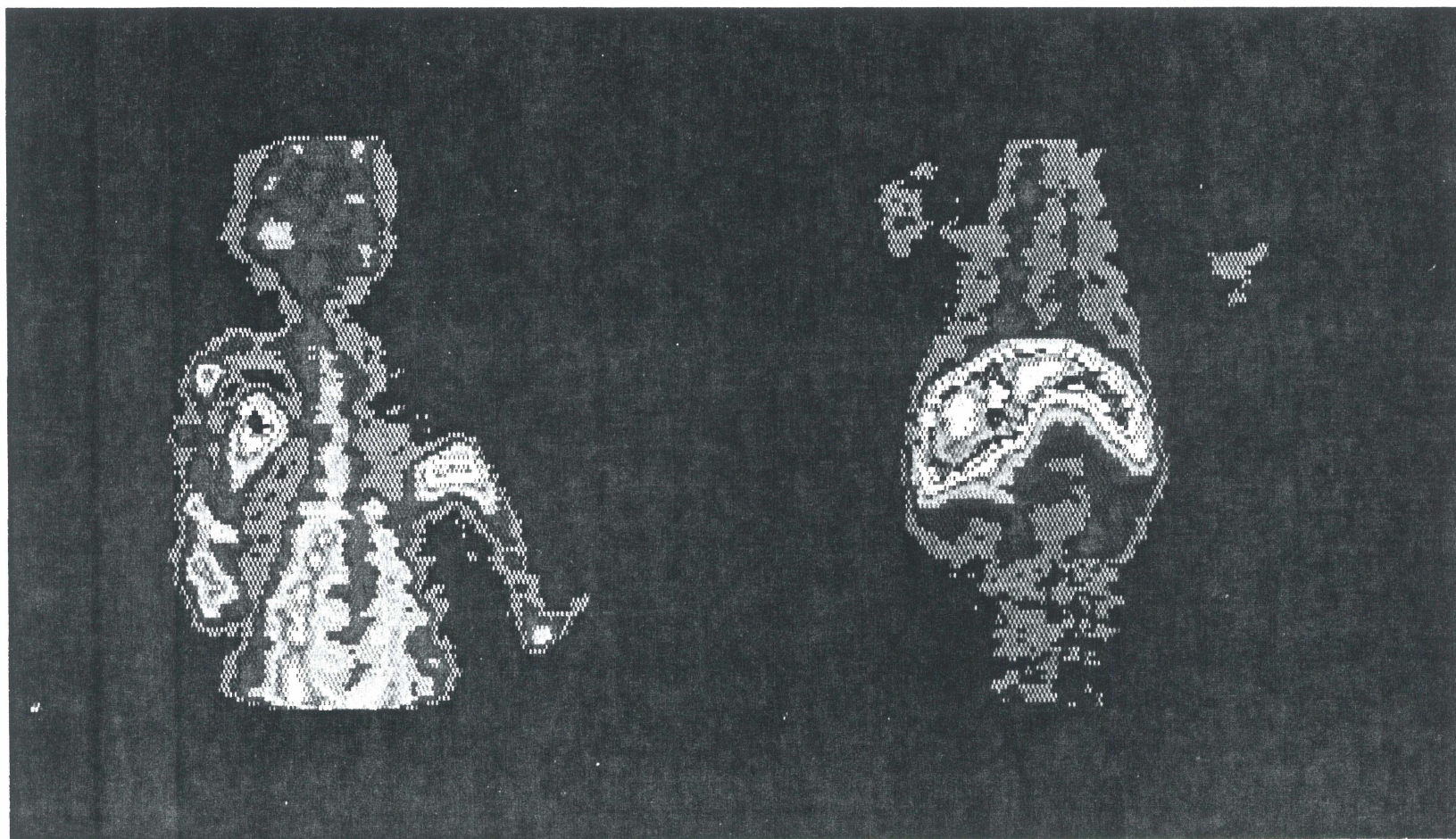


Figure 32d. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 12 heures post-injection. Vue antérieure de la tête et du thorax (gauche). Vue antérieure du thorax et de l'abdomen (droite). Dépôt de ^{153}Gd aux articulations des épaules, aux vertèbres et aux os du crâne. Toujours aucun changement au foie. L'image est similaire à celle obtenue à 4 heures post-injection.

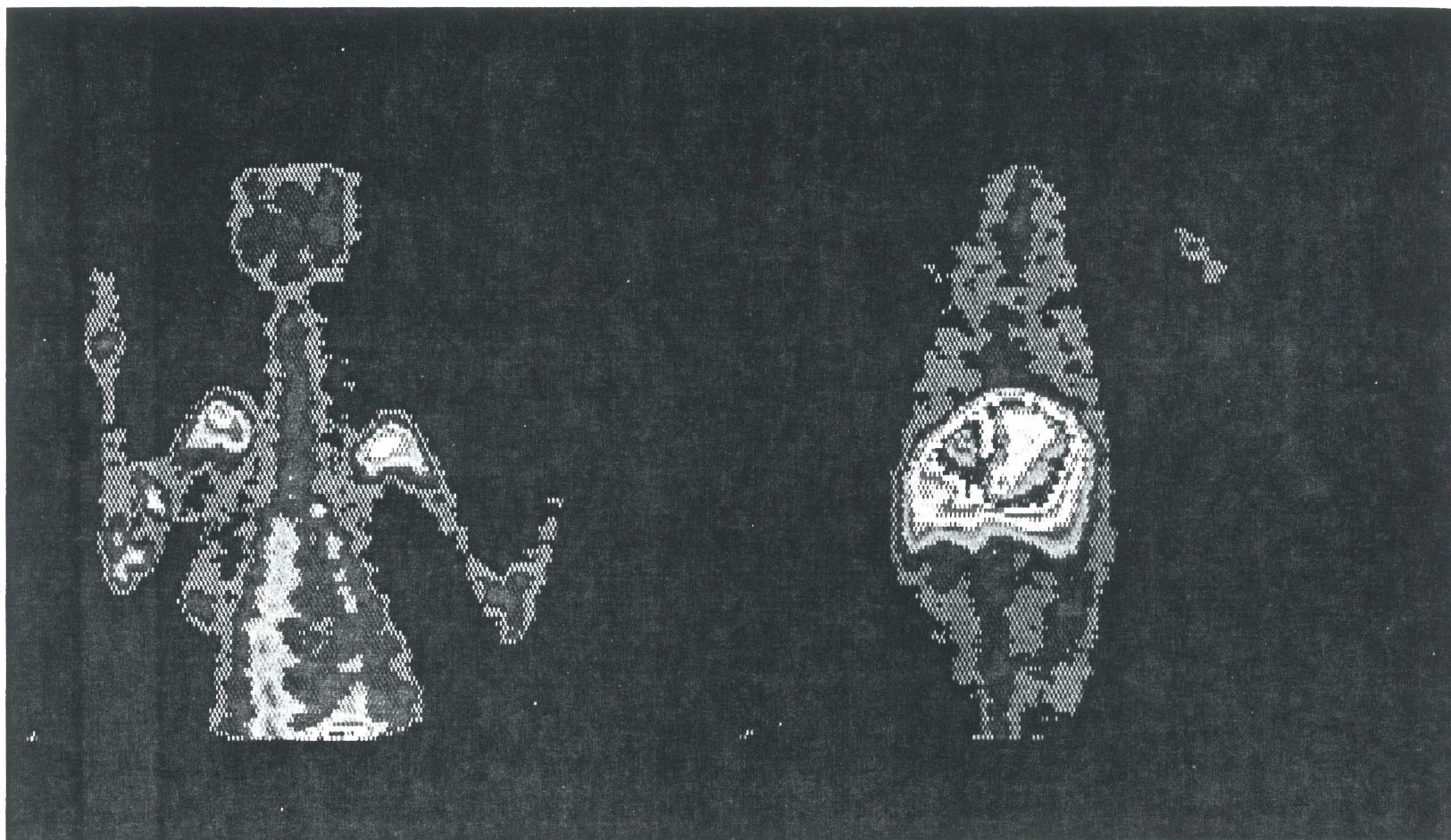


Figure 32e. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 24 heures post-injection. Vue antérieure de la tête et du thorax (gauche). Vue antérieure du thorax et de l'abdomen (droite). Dépôt de ^{153}Gd aux articulations des épaules, aux vertèbres et aux os du crâne. Toujours aucun changement au foie. L'image est similaire à celle obtenue à 4 heures post-injection.

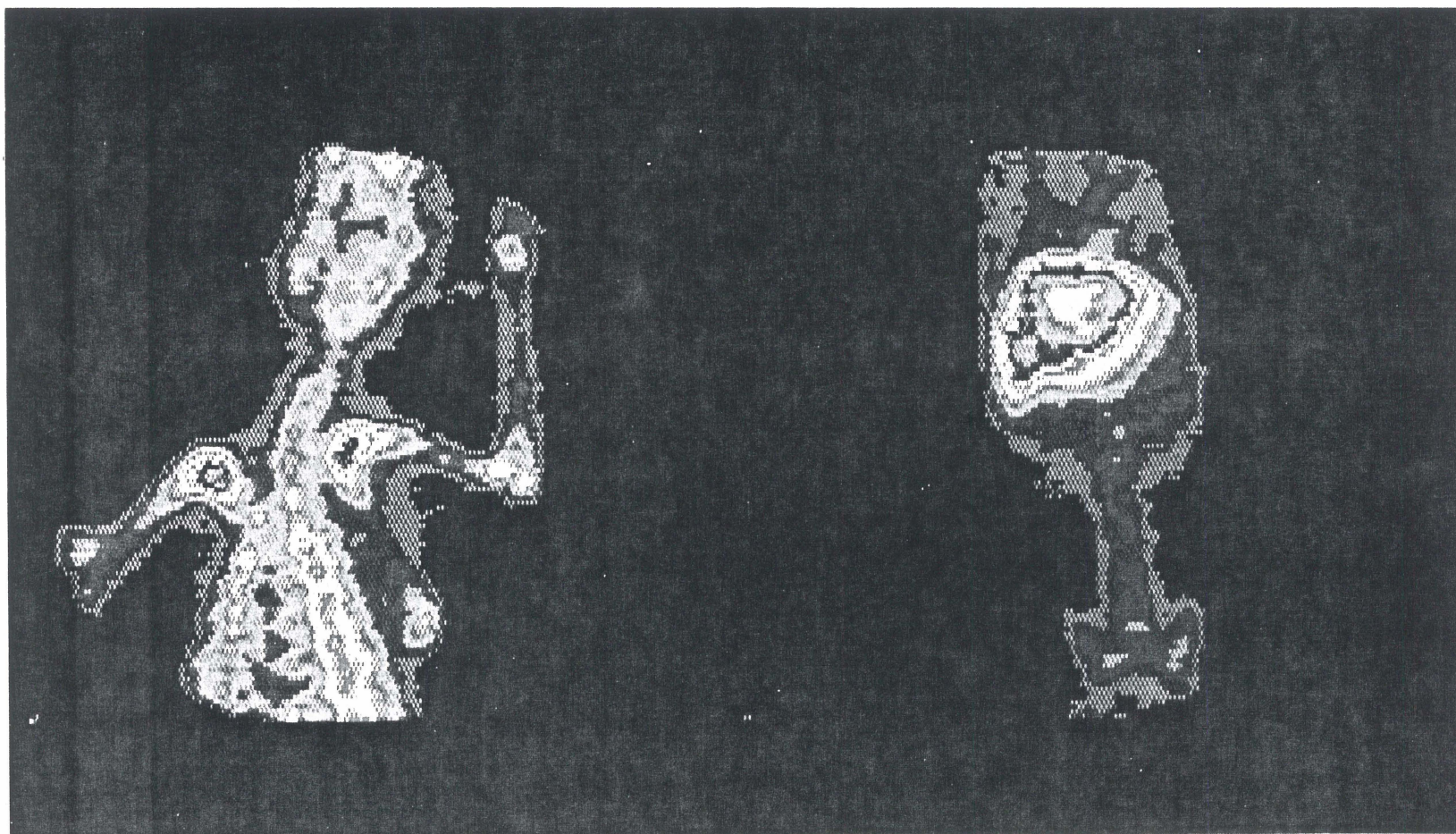


Figure 32f. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 6 jours post-injection. Vue antérieure de la tête et du thorax (gauche). Vue antérieure de l'abdomen et du bassin (droite). Une élévation du contenu en ^{153}Gd est notée aux vertèbres et aux os du crâne. Peu de changement pour les articulations et le foie.

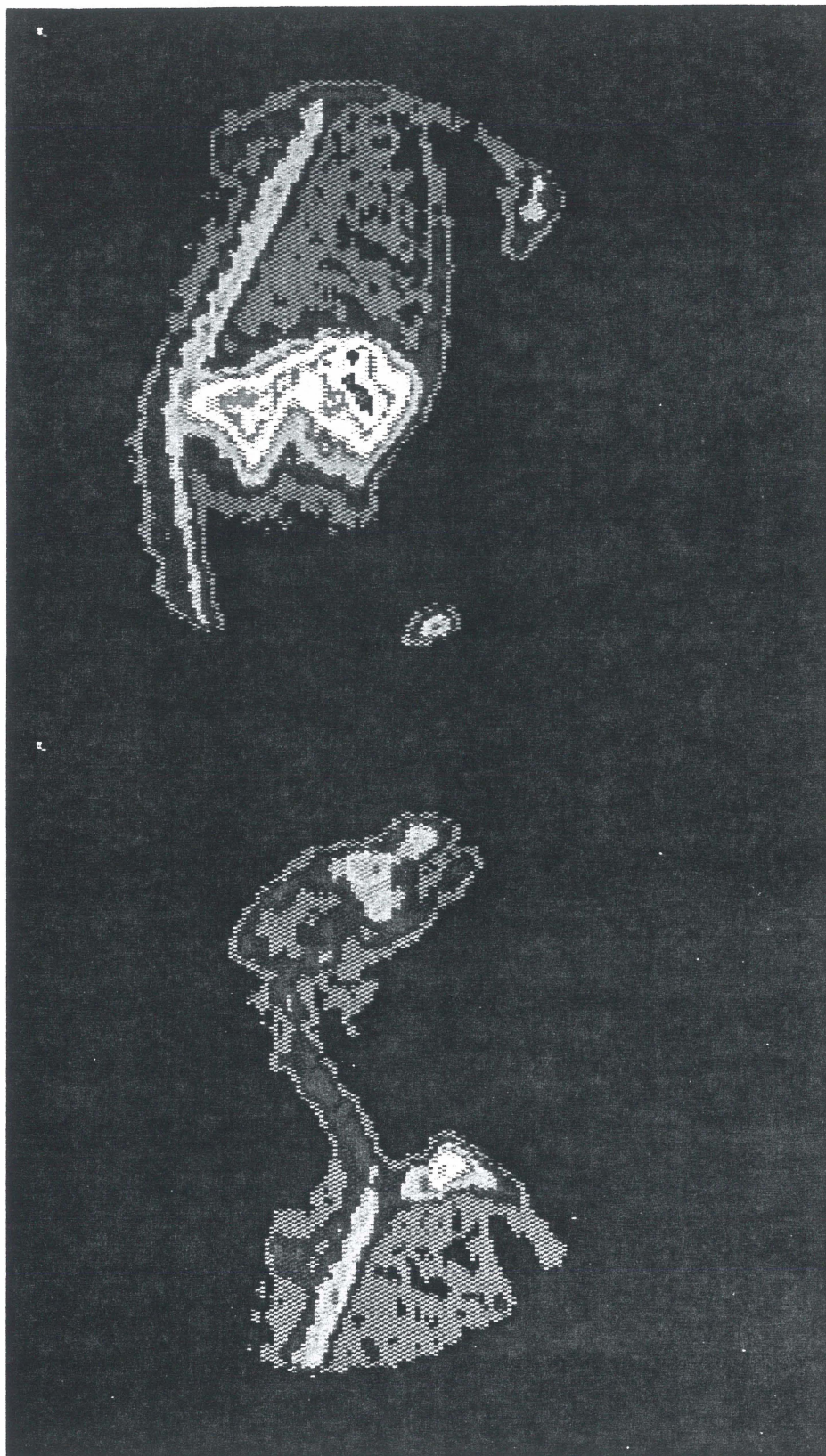


Figure 32g. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 20 semaines post-injection. Vue latérale, côté droit du thorax et de l'abdomen (haut). Vue latérale, côté droit de la tête et du thorax (bas). Une baisse de la radioactivité est observée aux vertèbres, aux articulations et au crâne. Le contenu en ^{153}Gd fut diminué bien que l'image présentée ne puisse le démontrer.

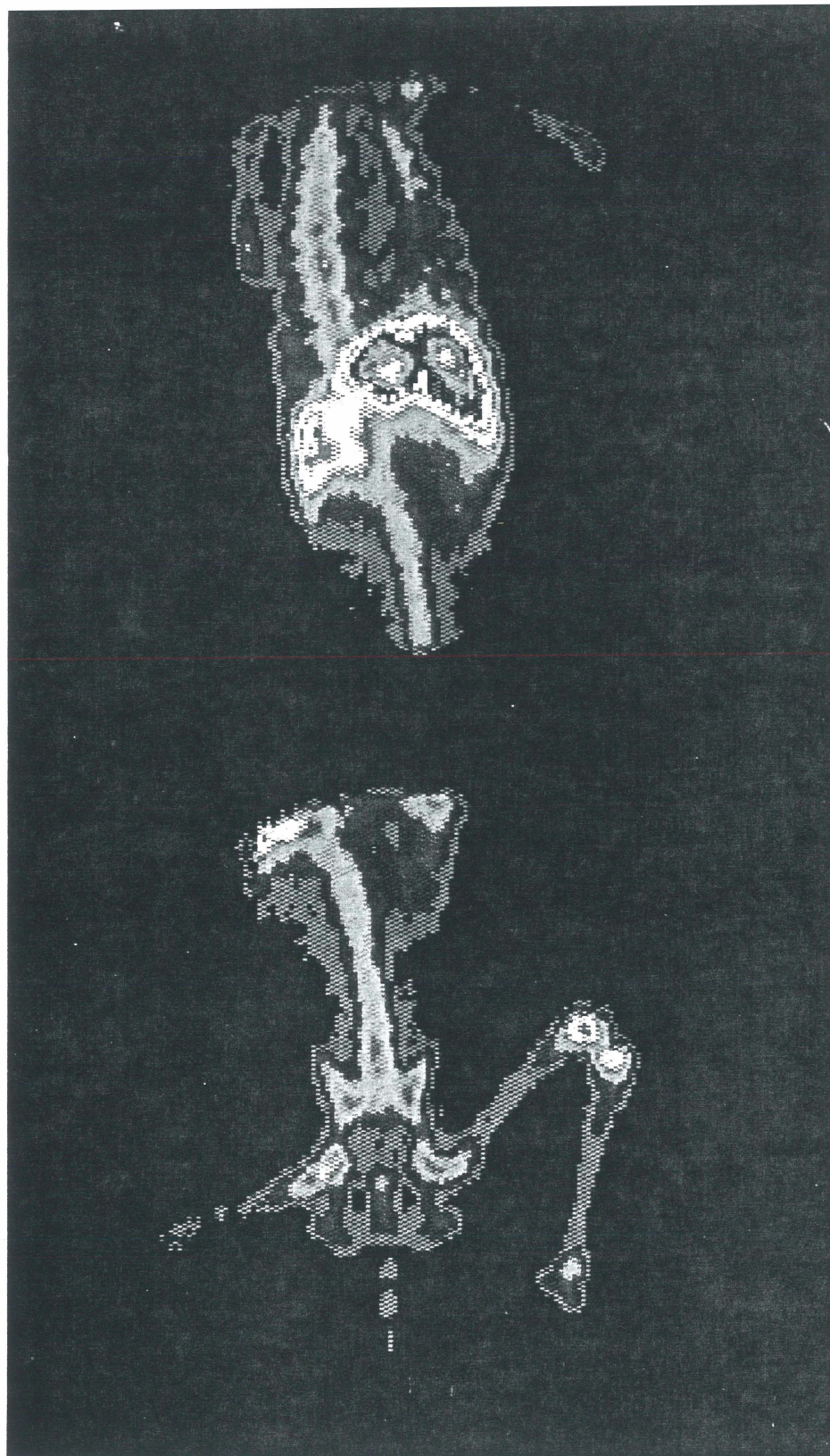


Figure 32h. Scintigraphie au ^{153}Gd chez un chien.

Distribution du ^{153}Gd à 20 semaines post-injection. Vue antérieure du thorax et de l'abdomen (haut). Vue antérieure de l'abdomen et du bassin (bas). Une baisse de la radioactivité est observée aux vertèbres, aux articulations et au crâne. Le contenu en ^{153}Gd fut diminué bien que l'image présentée ne puisse le démontrer.

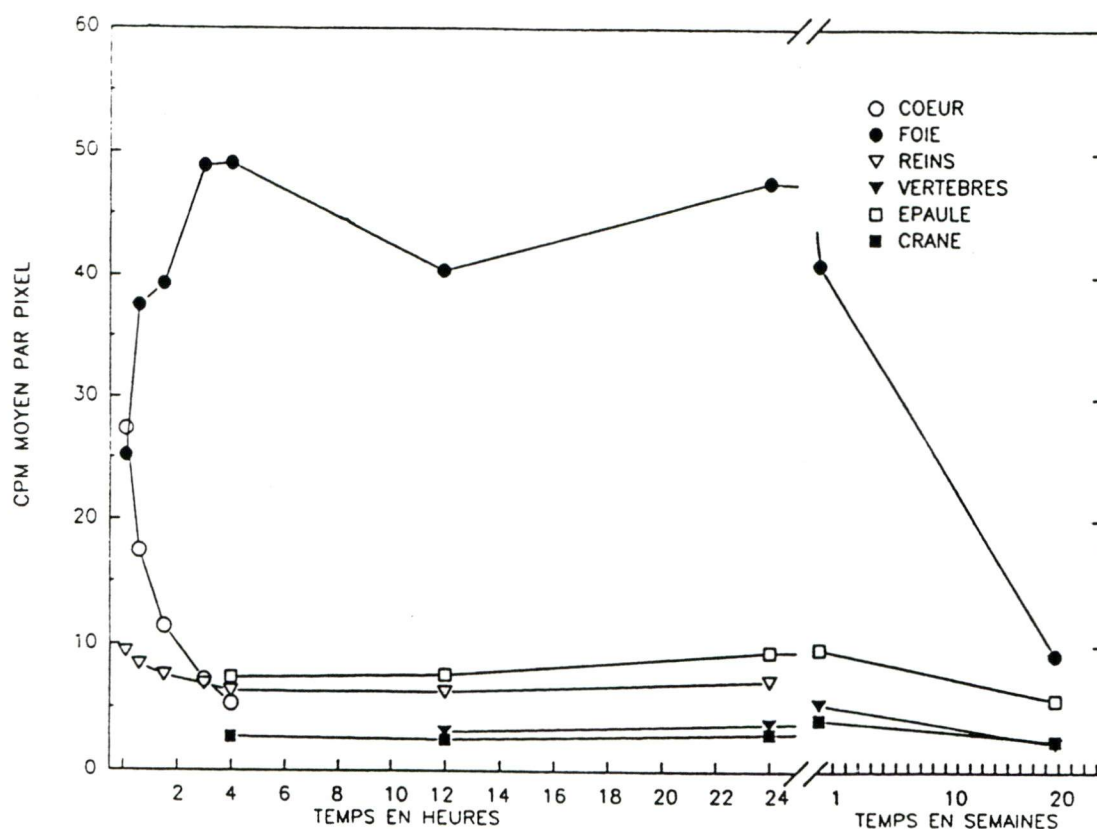


Figure 33. Biodistribution du ^{153}Gd dans l'organisme

Courbes de distribution du ^{153}Gd dans diverses structures en fonction du temps. La radioactivité relative (CPM moyen/pixel) est présentée en ordonnée alors que le temps (heures et semaines) est exprimé en abscisse. Le foie et les os représentent des cibles de prédilection pour le ^{153}Gd .

post-injection, une radioactivité importante fut décelée au coeur et aux vaisseaux sanguins. Une décroissance de la radioactivité suivit pour ensuite se maintenir à un taux basal à 4 heures suivant l'injection. On nota la présence de ^{153}Gd au niveau des reins au début de la scintigraphie. La quantité de ^{153}Gd était par contre inférieure au coeur et au foie. Une légère baisse de la radioactivité survint jusqu'à 4 heures post-injection. Par la suite, le taux de radioactivité fut constant jusqu'au temps de 24 heures. Ce n'est qu'à partir de la 4e heure, qu'une déposition de ^{153}Gd se fit au niveau des os: articulations (ex.: épaule), crâne et vertèbres. Le niveau de radioactivité demeurant relativement constant pour les articulations jusqu'à 6 jours. Pour les vertèbres et le crâne, le niveau de radioactivité fut stable jusqu'à 24 heures. A 6 jours, on pu noter une légère élévation. 20 semaines plus tard, on enregistra une baisse de la radioactivité pour tous les os.

Ainsi, on a constaté que le gadolinium s'accumulait particulièrement au foie et aux os en général. Selon la figure 33, après 1 semaine post-injection, on avait toujours 65 % de la radioactivité au foie et 33 % aux os et ce relativement aux organes évalués. 5 % de la radioactivité a été éliminée dans l'urine et 1 % dans les fécès pour un total de 6 %. L'élimination du ^{153}Gd se faisait lentement. Weinmann et collaborateurs (1984) ont démontré que le foie était un site majeur d'accumulation du ^{153}Gd . Il retenait plus de 56 % de la radioactivité après 1 semaine suivant l'injection intraveineuse de $^{153}\text{GdCl}_3$ chez le rat. La rate contenait environ 25 % des comptes et le reste du corps incluant les os, environ 16 %. Après 7 jours, 0.1 % de la dose avait été éliminée dans l'urine et 2.1 % dans les fécès pour un total de 2.2%.

CONCLUSION

Nous avons trouvé une méthode nouvelle, simple et efficace pour faciliter la localisation radiologique des calculs des voies urinaires jusqu'ici non détectables. Un rehaussement de la radio-opacité des calculs avec certains métaux lourds a permis d'améliorer leur détection radiologique.

Des incubations in vitro (modèle statique) ont tout d'abord été tentées pour sélectionner les métaux pouvant élever la radio-opacité des calculs des voies urinaires. Des radio-opacifications ont été obtenues avec la majorité des lanthanides. Chez ces métaux, le Gd et l'Yb ont donné les radio-opacification et incorporation les plus importantes. Le Cs, Ba et Sr ont également donné de bons résultats. Toutefois, les effets les plus spectaculaires furent observés avec le Th et l'U.

Des perfusions in vitro (modèle dynamique) furent entreprises par la suite. Parmi les métaux employés, le Ba et les lanthanides (Gd, Dy, Yb, Lu) ont radio-opacifié les fragments de calculs. Les meilleurs résultats furent une fois de plus obtenus avec les actinides Th et U. Les résultats étaient similaires aux incubations.

Les métaux les plus révélateurs, soient le Th et U ont été repris pour des perfusions in vitro dans des reins de chiens. Aucune radio-opacification ni incorporation significatives ont été observés. Une déficience fonctionnelle du rein et une récupération incomplète des fragments pourraient être associées à ces résultats inconsistants.

Comme les perfusions avec le rein isolé ne fonctionnait pas bien, des perfusions *in vivo* chez le chien ont été entreprises. Les actinides (Th et U) furent utilisés en premier. Toutefois, aucune radio-opacification des calculs n'a été observée. Il y eu marquage non-spécifique: le bassin et les calices étaient aussi marqués et les calculs n'étaient pas distincts. De plus, étant donné la nature radioactive de U et Th, ceux-ci ne pourraient vraisemblablement pas être employé en clinique. Des lanthanides étudiés, Gd et Yb ont produit les meilleurs opacification et incorporation. L'Eu s'est aussi incorporé de façon significative dans des calculs endogènes trouvés chez un animal. L'incorporation fut jusqu'à six fois supérieure chez ces calculs. Cela dénote peut-être l'importance de la matrice du calcul vis-à-vis le phénomène d'incorporation/opacification. L'Eu étant un élément rare et dispendieux, son utilisation clinique serait sans doute restreinte. Les essais avec cet élément furent donc interrompus. Le Sr et le Ba ont également produit de bons résultats. Toutefois les sels solubles du Ba sont toxiques et ne font pas de ce métaux un choix approprié. Parce que le Sr a une masse atomique moins importante (potentiel de radio-opacification), les études l'impliquant furent aussi interrompues. Le Cs fut retenu bien qu'il opacifiait à la fois le calice et les calculs: après un rinçage adéquat seul les calculs demeuraient opaques. Bref, les éléments potentiels pour la radio-opacification des calculs des voies urinaires s'avéraient le Cs, le Gd et l'Yb.

L'obtention d'une incorporation six fois supérieure avec des calculs endogènes , nous a incité à faire des perfusions chez le chien modèle chronique. Une radio-opacification adéquate fut obtenue avec les deux métaux testés: Cs et Gd. L'incorporation fut faible contrairement aux prévisions. Une récupération incomplète des fragments implantés et un rinçage trop prolongé on pu mener à une sous-estimation de

l'incorporation. Ces perfusions ont également permis l'obtention d'un temps de perfusion optimal pour la radio-opacification. Les temps établis ont été respectivement de 30 min. et 60 min. pour le Cs et le Gd alors que les perfusions initiales duraient deux heures. Bien que non-établi, le temps optimal de perfusion avec Yb devrait être semblable à celui du Gd étant donné que Yb est aussi un lanthanide.

Une évaluation morphologique de l'épithélium urinaire des animaux traités avec les sels de Cs, Yb et Gd fut effectué. Aucune altération épithéliale n'a été notée suivant les perfusions au Cs et Yb. Il y eut perte épithéliale superficielle avec le Gd. Les altérations sont mineures si bien qu'au bout d'une semaine l'épithélium est complètement régénéré. Le Cs, Yb et Gd ne sont pas véritablement toxiques vis-à-vis l'urothélium.

Nous avons aussi déterminé si il y avait absorption des métaux lourds par l'urothélium lorsque ceux-ci étaient perfusés directement dans le rein via l'uretère. Les deux isotopes disponibles étaient le ^{137}Cs et le ^{153}Gd . 0.3% du ^{137}Cs fut absorbé sans obstruction rénale alors qu'avec obstruction ce taux grimpa à 7%. Aucune absorption n'a été obtenue avec le ^{153}Gd , tant en absence ou en présence d'obstruction rénale.

Puisque les patients souffrant de lithiases peuvent présenter de l'obstruction rénale, il pourrait y avoir absorption significative de Cs lors d'une éventuelle radio-opacification avec ce métal. L'utilisation clinique du Gd s'avérerait sans doute plus adéquate, puisque qu'il ne fut en aucun cas absorbé.

Pour compléter l'étude toxicologique, une scintigraphie au ^{153}Gd a été réalisé. La

biodistribution préférentielle du ^{153}Gd se fit au foie et aux os. De plus, l'élimination de cet isotope par l'animal fut lente. Les scintigraphies avec des radio-isotopes du Cs et Yb n'ont pu être faites étant donné le niveau d'énergie peu commode de ces isotopes.

Ainsi le Gd s'avérerait d'utilisation plus adéquate que le Cs pour radio-opacifier les calculs des voies urinaires. Le Gd n'est pas toxique vis-à-vis l'urothélium, il n'est pas absorbé et la radio-opacification qu'il suscite est spécifique. Son emploi ne nécessite donc pas de rinçage ultérieur tel que requis avec le Cs. Toutefois, d'autres études toxicologiques seront nécessaires pour prouver définitivement l'adéquation des perfusions au Gd et Yb lors d'éventuels essais cliniques de radio-opacification des calculs des voies urinaires.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le docteur Emmanuel Escher pour m'avoir accueillie dans son équipe. L'originalité dans son approche m'a permis de participer à un projet multidisciplinaire fort intéressant.

Je désire également exprimer ma reconnaissance au docteur Jacques Corcos pour m'avoir fait confiance sur ce projet et pour son expertise urologique essentielle.

Mes remerciements s'adressent aussi aux personnes suivantes:

Les docteurs Sylvie Groleau, radiologiste, Prométhéo Madarnas, pathologiste, Regina Zamogska pour la spectrométrie de fluorescence à rayons X, et Jacques Rousseau pour la scintigraphie.

Les docteurs Lucie Brazeau et Gérard Plante pour la correction de ce mémoire.

Mes confrères et consœurs de laboratoire: Roger Bossé pour ses conseils judicieux et Chantal Savoie pour m'avoir aidée à terminer la scintigraphie.

Enfin à tous les professeurs et membres du personnel du département de Pharmacologie qui ont participé de près ou de loin à mon apprentissage.

BIBLIOGRAPHIE

BRUCE, D.W., HIETBRINK, B.E., et DUBOIS, K.P., The acute mammalian toxicity of rare earth nitrates and oxides. Toxicology and Applied Pharmacology, volume 5, pages 750-759 (1963).

CAILLE, J.M., LEMANCEAU, B., et BONNEMARI, B., Gadolinium as a contrast agent for NMR. American Journal of Nuclear Medicine, volume 4, pages 1041-1042 (1983).

CARR, D.H., BROWN, J., BYDDER, G.M., STEINER, R.E., WEINMANN, H.J., SPECK, U., HALL, A.S., et YOUNG, I.R., Gadolinium-DTPA as a contrast agent in MRI: initial clinical experience in 20 patients. American Journal of Radiology, volume 143, pages 215-224 (1984b).

CASARETT, L.J., Toxicology, The Basic Science of Poisons. Louis J. Casarett et John Doull éditeurs, Macmillan Publishing co. Inc., Toronto, pages 465-466 (1975).

CLAUSSEN, C., LANIACO, M., KAZNER, E., SCHORNER, W., et FELIX, R., Application of contrast agents in CT and MRI (NMR): their potential in imaging of brains tumors. Neuroradiology, volume 27, pages 164-171 (1985).

CONSOLAZIO E., Physiological Measurements of Metabolic Functions in Man, McGraw-

Hill, New-York, page 437 (1963)

DAVIDSON, A.J., Intraluminal Abnormalities. W.B. Saunders Company, Toronto, pages 424-436 (1985).

GRACA, J.G., DAVIDSON, F.C., et FEAVEL, J.B., Comparative toxicity of stable rare earth compounds. Effect of citrate and edetate on acute toxicity in mice and guinea pigs. Archives of Environmental Health, volume 5, pages 437-444 (1962).

GRIFFITH, D.P. et OSBORNE, C.A., Infection (Urease) stones. Mineral Electrolyte Metabolism, volume 13, pages 278-285 (1987).

HALEY, T.J., KOMESU, N., FLESHER, A.M., MAVIS, L., CAWTHORNE, J., et UPHAM, H.C., Pharmacology and toxicology of terbium, thulium and ytterbium chlorides. Toxicology and Applied Pharmacology, volume 5, pages 427-436 (1963).

HALEY, T.J., RAYMOND, K., KOMESU, N., et UPHAM, H.C., Toxicological and pharmacological effects of gadolinium and samarium chlorides. British Journal of Pharmacology, volume 17, pages 526-532 (1961).

KELLUM, C.D., TEGTMEYER, C.J., JENKINS, A.D., BARR, J.D., GILLENWATER, J.Y., WYKER, A.W., et LIPPERT, M.C., The role of radiology in extracorporeal shock wave therapy. Radiology, volume 165, pages 431-438 (1987).

LAROCHE,B., LECLERE,H et COUILLARD,M. L'urolithiase. Module du cours "Appareil Urinaire (NEP-DT-26)". Université Laval, 1990.

LEGGET, R.W., Predicting the retention of Cs in individuals. Health Physics, volume 50 (6), pages 747-759 (1986).

McNEILL, K.G., GREEN, R.M., et RAPOPORT, A., The effect of potassium intake on excretion of Cs-137 in the human. Whole body counting, pages 357-363 (1962).

MESSIHA, F.S., Cesium: a bibliography update. Pharmacology Biochemistry and Behavior, volume 21, supplément 1, pages 113-129 (1984).

MIDDLETON, W.D., DADDS, W.J., LAWSON, T.L. et KOLEY, D.W., Renal calculi: sensitivity for detection with US. Radiology, volume 167, pages 239-244 (1988).

MILLER, R.A., WICKHAM, J.E.A., et KELLET, M.J., Percutaneous destruction of renal calculi: clinical and laboratory experience. British Journal of Urology, supplément, page 51 (1983).

MORRIS, T.W., et FISHER, H.W., The pharmacology of intravascular radio contrast media. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, volume 26, pages 143-160 (1986).

NELSON, K.L., et RUNGE, V.M., Enhanced magnetic resonance imaging. V.M. Runge

éditeur, The C.V. Mosby Company, Toronto, pages, 57-73 (1989).

N.I.H. Consensus development conference on prevention and treatment of kidney stones.

The Journal of Urology, volume 141, pages 705-808 (1989).

PINSKY, C., BOSE, R., TAYLOR, J.R., MCKEE, J.S.C., LAPOINTE, C., et BIRCHALL, J., Cesium in Mammals: Acute toxicity, organ changes and tissue accumulation. Journal of Environmental Science Health, volume A16 (5), pages 549-567 (1981).

RENCK, H. Bleeding and thrombotic disorders in surgical patients. East Norwalk, Conn., Appleton & Lange, 1988.

RICHMOND, C.R., et FURCHNER, J.E., Enhancement of cesium-137 excretion by rats fed potassium-supplemented diets. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., volume 108, pages 797-798 (1961).

RIES, S.W., et MALAMENT, M., Renacidin: A urinary calculi solvent. The Journal of Urology, volume 87 (5), pages 657-661 (1962).

RICHMOND, C.R., Retention and excretion of radionuclides of the alkali metals by five mammalian species. Health Physics, volume 38, pages 1111-1153 (1980).

ROUS, S.N., Stone Disease: Diagnosis and management. Grune et Stratton éditeurs (1987).

SMITH, L.H., Pathogenesis of renal stones. *Mineral Electrolyte Metabolism*, volume 13, pages 214-219 (1987).

STEFANOVIC, V., IVIC, M.A., et STRAHINJIC, S., Calcium and phosphate metabolism in uranyl nitrate induced acute renal failure. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, volume 95, pages 223-228 (1987).

VENUGOPAL, B., et LUCKEY, T.D., Metal Toxicity in Mammals, volume 2, *Chemical Toxicity of Metals and Metalloids*. Plenum Press, New York, pages 101-173 (1978).

WEINMANN, H.-J., BRASCH, R.C., PRESS, W.R., et WESBEY, G.E., Characteristics of gadolinium-DTPA complex: a potential NMR contrast agent. *American Journal of Radiology*, volume 142, pages 619-624 (1984).

WETHERILL, S.F., GUARINO, M.J., et COX, R.W., Acute renal failure associated with chloride poisoning. *Annals of Internal Medicine*, volume 95, pages 187-188 (1981).